CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung. XXII. Band.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde

und Infektionskrankheiten.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens**, Direktor der biologischen Anstalt zu Dahlem-Berlin, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. **Delbrück** in Berlin, Prof. Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter**, Durham College of Science, New-castle-upon-Tyne, Prof. Dr. **Samuel C. Prescott** in Boston, Prof. Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Van Laer** in Gand, Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. Oscar Uhlworm in Berlin

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Zweite Abteilung. XXII. Band.

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

Mit 22 Tafeln und 19 Abbildungen im Texte.

Jena,

Verlag von Gustav Fischer.

1909.

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XXII. No. 1/3.

Untersuchungen eines Abwässerschlammes.

Von Dr. **Hugo Kühl**, Darmstadt.

Die Masse entstammte Molkereien und Brauereien, war halbdickflüssig und entwickelte einen penetranten Fäulnisgeruch, der selbst nach dem Austrocknen noch vorhanden war. Der Trockenrückstand des Schlammes betrug 7,06 Proz., seine Reaktion war schwach alkalisch. Seine chemische Untersuchung ergab folgende für die Landwirtschaft wertvollen Resultate:

	I. Analyse	II. Analyse	Mittel
1) Salpeterstickstoff	0,194 Proz.	0,18 Proz.	0,187 Proz.
2) Ammoniakstickstoff	0,57 „	0,59 „	0,58 „
3) Stickstoff in organischer Form	0,76 „	0,77 „	0,70 „
4) Kali	0,497 „	0,491 „	0,494 „
5) Phosphorsäure	0,099 „	0,095 „	0,097 „

Bekanntlich erhält man den Salpeterstickstoff durch Subtraktion des Ammoniakstickstoffes von dem Resultat, das man bei Ausführung der Salpeterstickstoffbestimmung aus frischer Substanz erhält. Addiert man die beiden ersten Analysenresultate, so gelangt man zu Zahlen, die fast den unter 3. angegebenen entsprechen. Hieraus geht hervor, daß fast kein Salpeterstickstoff vorhanden ist.

Dieses interessante Resultat veranlaßte den Autor, eine bakteriologische Untersuchung vorzunehmen, die sich auf Feststellung der Keimzahl, des Vorhandenseins von Denitrifikationsbakterien, Fäulnisbakterien, Nitritbakterien und Nitratbakterien erstreckte.

Die Zählung der Keime wurde in der Weise ausgeführt, daß 10 ccm Schlamm mit sterilem Wasser verdünnt wurden im Verhältnis 10 : 400, 100 : 500, 100 : 500 und dann 1 ccm der letzten Verdünnung, entsprechend 0,0002 ccm Schlamm, zur Aussaat diente. Die Petri-Schalen wurden 3 Tage bei 30° C im Brutschrank aufbewahrt, dann die Zählung vorgenommen. Es wurden 6 000 000 Keime bezw. Kolonieen gezählt. Als Nährboden diente Nitritagar. Die mikroskopische Prüfung einzelner Kolonieen ergab im hängenden Tropfen: Zur Hauptsache waren rundliche, fast kugelförmige und breit längliche, deutlich Sporen tragende Bakterien, sowie plumpe Stäbchen vorhanden, die an dem einen Pol keulenförmig angeschwollen waren und Sporen bargen.

Zur Prüfung auf Denitrifikationsbakterien wurden 150 ccm sterile Jensen-Lösung mit dem Rohmaterial geimpft. Es trat eine langsame Denitrifikation ein, nach 3 Tagen wurde Schäumen beobachtet, nach 7 Tagen sehr starke Schaumbildung. Der Salpeter war völlig abgebaut, mit Diphenylamin in schwefelsaurer Lösung trat keine, mit Jodkaliumstärkekleister eine kaum wahrnehmbare Reaktion ein. Von der Rohkultur wurde zur Zeit der stärksten Denitrifikation abgeimpft auf Röhrchen, in die 15 cm hoher Schicht mit Jensen-Lösung sterilisiert waren. Die Denitrifikation war nach 5 Tagen völlig beendet. Diese Kultur diente jetzt zum Plattengießen, und zwar wurden 0,5 ccm verwendet und 3 Platten gegossen in folgender Weise: Zu 10 ccm Jensen-Agar

wurden 0,5 ccm der Kultur hinzugefügt, gut und vorsichtig gemischt und die erste Platte gegossen, darauf wurden in das entleerte Reagensglas 10 ccm steriler Jensen-Agar gefüllt und die zweite Platte gegossen. In gleicher Weise verfuhr ich bei der dritten Platte.

Von den gewachsenen Kolonieen wurde abgeimpft auf Jensen-Lösung, die in etwa 10 cm hoher Schicht im Erlenmeyer-Kolben sterilisiert war. Es wurde bei zwei Kulturen starkes Schäumen, bei einer schwaches Schäumen beobachtet, während in einer vierten der Salpeter ohne diese Begleiterscheinung abgebaut wurde. Bei den ersten 2 Kulturen verlief die Denitrifikation bis zum Stickstoff ziemlich rasch, bei der dritten war dagegen nach 8 Tagen noch eine schwache Nitritreaktion vorhanden und in der vierten Kultur endlich wurde das Nitrat nur zu Nitrit reduziert.

Gleichzeitig stellte ich in dem Schlamm das Vorhandensein von Nitritbakterien fest. In einem Erlenmeyer-Kolben wurde in 10 cm hoher Schicht Nitritbakteriennährlösung mit dem Schlamm geimpft. Täglich wurde mit Jodkalistärkekleister nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure, sowie mit schwefelsaurer Diphenylaminlösung geprüft. Nach 5 Tagen war die Nitritbildung vollendet. Von den Rohkulturen impfte ich am 3. Tage wieder auf neue Nährlösung ab. Die Nitritbildung war nach 6 Tagen vollendet. Eine Identifizierung der Nitritbakterien durch Züchtung auf Kieselgallerte wurde nicht ausgeführt, da es sich nur um den Nitrierungsprozeß handelte.

Endlich wendete ich meine Aufmerksamkeit den Fäulnisbakterien zu, und zwar setzte ich 3 Versuche an:

1) Nährbouillon wurde mit dem Rohmaterial geimpft.

2) Ein mit 2-proz. Rohrzucker versetzter, kalt bereiteter Treberauszug wurde sterilisiert und mit dem Rohmaterial geimpft.

3) Ein mit 2-proz. Rohrzucker und 2-proz. Kaliumkarbonat versetzter Treberauszug wurde sterilisiert und mit dem Schlamm geimpft.

Nirgends trat der charakteristische Fäulnisgeruch auf. Nach 2 Tagen bedeckten sich die Kulturen 1 und 2, vornehmlich 1 mit einer Kahmhaut, nach 3 Tagen wurden auch auf der Kultur 3 weiße Rasen beobachtet. Die mikroskopische Analyse ergab das Vorhandensein von Oidium lactis. In 1 wurden außerdem einige Bakterien, die plumpe bewegliche Stäbchen bildeten, gesehen. Nach Abimpfen auf neue gleiche Nährlösung wurden fast Reinkulturen von Oidium lactis erhalten.

Wie aus meinen Ausführungen ersichtlich ist, enthielt der Schlamm sowohl Salpeterstickstoff bildende wie abbauende Bakterien. — Auf die Stickstoffbinder Clostridium und Azotobacter wurde keine Rücksicht genommen. — Aus den Analysenresultaten geht hervor, daß eine schwache Bildung von Salpeterstickstoff vorhanden ist, daß mit anderen Worten die Nitrierung die Denitrifikation übertrifft.

Einige Ergebnisse und Bemerkungen über den sogenannten Bacillus bulgaricus und das Milchsäurepräparat „Lactobacilline."

[Aus dem Laboratorium der bakteriologisch-agronomischen Station bei der Kaiserl. russischen Akklimatisationsgesellschaft für Pflanzen und Tiere in Moskau.]

Von **S. A. Sewerin** in Moskau.

Der Bacillus bulgaricus ist bekanntermaßen seiner diätetischen und therapeutischen Bedeutung nach der wesentlichste Bestandteil des zuerst vom Pariser Laboratorium der Gesellschaft „Le Ferment" unter dem Namen „Lactobacilline" in den Handel gebrachten Bakterienpräparates. Nach Metschnikoffs Theorie sind die Milchsäurebacillen im allgemeinen und unter ihnen besonders der Bac. bulgaricus vom medizinischen Standpunkte aus die nützlichsten Mikroorganismen, sowohl wegen seiner außerordentlichen Energie als Milchsäurebildner, als auch wegen seiner hervorragenden Eigenschaft, sich rapid im menschlichen Darm zu akklimatisieren und eben dadurch die gewöhnliche Darmflora, vorwiegend den menschlichen Organismus nach Metschnikoff systematisch vergiftende Fäulnisbakterien, zu verdrängen. Welches Schicksal den Bacillus bulgaricus im Darm trifft und welche Folgen für den gesunden oder pathologisch veränderten menschlichen Organismus aus der Ansiedelung dieses Mikroben im Darm resultieren, das sind Fragen, welche naturgemäß am meisten die Aerzte beschäftigen. Eine ganze Reihe von Forschern, wie Cohendy, Combe, Broché, Robin, Makaroff u. a. haben mit ihren Laboratoriumsversuchen und klinischen Studien bereits eine kleine Literatur über die Frage geschaffen. Dank der gründlichen Arbeit von Bertrand und Weisweiller ist auch die Frage über den Chemismus der Umwandlungen, welchen die Milch unter dem Einfluß der Lebenstätigkeit des Bac. bulgaricus anheimfällt, in bedeutendem Maße geklärt; einiges Material dazu liefern auch die von Fouard ausgeführten Analysen von nach der Metschnikoffschen Methode zubereiteter Sauermilch. Weit weniger wissen wir über den Bac. bulgaricus vom rein morphologischen Standpunkte, welcher nichtsdestoweniger für den Bakteriologen nicht weniger interessant ist.

Im Grunde genommen ist sogar der Name des Mikroben und der Name seines Entdeckers bis dato noch mit dem Schleier der Ungewißheit und der Widersprüche bedeckt. Soweit die russische Spezialliteratur in Betracht kommt [1) Metschnikoff, Quelques remarques sur le lait aigri, 2) Tarchanoff, Ueber die Sauermilch, 3) Makaroff, Ueber den diätetischen Wert der Metschnikoffschen Sauermilch], erhält man aus derselben den Eindruck, daß der Bacillus bulgaricus zuerst von Heupel entdeckt ist und daß er deswegen den Namen Bac. bulgaricus erhalten hat, weil er zuerst aus dem bulgarischen Yoghurt isoliert worden ist. In einem anderen Werke von Metschnikoff (Essais optimistes) heißt es, daß die Yoghurtflora von Grigoroff, einem Schüler von Prof. Massol, erforscht sei, und daß im Metschnikoffschen Laboratorium den Yoghurt Michelson und Cohendy untersucht haben. „Diese haben aus demselben ein Milchsäurebakterium isoliert, welches den Namen Bac. bulgaricus erhalten hat" (s. p. 131), von Heupel ist hier bereits keine Rede. Leider habe ich die Heupelsche Arbeit nicht auffinden können und ist mir sogar die Existenz derselben bloß aus einer kurzen An-

gabe über diesen Autor und gleichzeitig über Grigoroff in der Arbeit von Combe „L'autointoxication intestinal" bekannt geworden. Uebrigens ist es, worauf ich unten noch zurückkommen werde, unmöglich, aus dieser Arbeit über den Namen des ersten Forschers, welcher den Bac. bulgaricus entdeckt hat, Gewißheit zu erlangen, und am wenigsten läßt sich von der Priorität Heupels sprechen. Andererseits haben Rist und Khoury bereits im Jahre 1902 einen mit dem Bac. bulgaricus vollständig identischen Mikroben, welchem sie den Namen Streptobacillus Lebenis gaben, isoliert und beschrieben (Etudes sur un lait fermenté comestible le „Leben" d'Egypte — Annales de l'Institut Pasteur. 1902). Diese Arbeit zitiert unter anderen auch Metschnikoff in seinen „Essais optimistes", aber auch hier keine Silbe über die Identität des Bac. bulgaricus mit dem Streptobacillus Lebenis, während in der Broschüre „Quelques remarques sur le lait aigri" nebenbei in einer Anmerkung erwähnt wird, daß der Bac. bulgaricus „auch aus dem ‚Leben' d'Egypte, sowie auch aus anderen Sauermilchprodukten isoliert worden ist" (s. p. 27). Nicht weniger unklar ist die historische Seite der Entdeckung des Bac. bulgaricus auch aus den wenigen Angaben, welche in der deutschen und französischen Literatur enthalten sind. In sämtlichen 4 von Cohendy in den Comptes rendu de la Société de Biologie pro 1906 über die Frage der menschlichen Darmflora und der Rolle des Bacillus bulgaricus in derselben veröffentlichten Arbeiten haben wir nicht die geringsten Winke über die uns beschäftigende Frage gefunden. In einer von diesen Arbeiten „Essais d'acclimatation microbienne persistante dans la cavité intestinale" finden wir bloß eine kurze Angabe, daß der Autor gleichzeitig mit Michelson aus bulgarischer Sauermilch den Bacillus bulgaricus gezüchtet hat; diese Angabe trägt aber natürlich nichts zur Klärung der Frage bei. Combe sagt in seiner Arbeit „L'autointoxication intestinale", daß den Bacillus bulgaricus aus dem bulgarischen Ferment „Maya" von Massol dessen Schüler Grigoroff isoliert hat, wobei letzterer dieses Ferment bakteriologisch untersucht hat, doch wer zuerst diesen Mikroben entdeckt hat, das bleibt auch hier wiederum unklar. Diese Unklarkeit wird noch stärker, indem Combe, ohne mit Bestimmtheit den Namen des ersten Entdeckers zu nennen, andererseits den Vorschlag macht, diesen Mikroben „Bacille de Massol" zu benennen, und auf diese Weise gleichsam dafür eintritt, daß Massol derjenige war, welcher zuerst diesen Mikroben entdeckt hat. Beachtenswert ist es, daß in der Combeschen Arbeit angegeben wird, daß dieser Mikrobe auch in dem ägyptischen „Leben" vorhanden ist, und das ist wahrscheinlich der Grund, weswegen er es in Anbetracht des Vorhandenseins des Bacillus bulgaricus in verschiedenen Sauermilchprodukten für richtiger hält, ihn anstatt „Bacille bulgare" wie obengenannt, „Bacille de Massol" zu nennen. Leider haben wir die Arbeit von Massol nicht gelesen, wir konnten uns auch die Grigoroffsche Arbeit nicht besorgen, doch ist aus Combes Angaben zu schließen, daß auch in diesen Arbeiten die Frage der Priorität und des eigentlichen Namens des Mikroben offen geblieben ist. Schließlich sind in den beiden zuletzt erschienenen Arbeiten wiederum keine Angaben über die uns interessierenden Fragen vorhanden. Eine von diesen Arbeiten ist in den Annales de l'Institut Pasteur. 1907. No. 12 abgedruckt (Belonovsky, Influence du ferment lactique sur la flore des excréments des souris), hier ist gar keine Rede davon, die andere Arbeit von Luerssen und Kühne ist im Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. 1908. Heft 8/9 unter dem Titel „Yoghurt,

die bulgarische Sauermilch" abgedruckt, hier sind unter anderem die Ergebnisse von Analysen der in den Handel gebrachten Yoghurt- und „Lactobacilline"-Präparate, sowie auch eines von den Autoren aus Bulgarien bezogenen Originalpräparates von Yoghurt veröffentlicht; in dieser Arbeit nennen die Autoren den spezifischen Erreger der Milchsäuregärung des Yoghurt stets „Bacillus bulgaricus", ohne den Namen Heupel zu erwähnen und ohne eine Silbe über seine Identität mit Streptobacillus Lebenis. Hier sei bemerkt, daß man denjenigen Mikroben, welchen sie als B. bulgaricus beschreiben und von dem sie annehmen, daß mit demselben alle anderen Autoren gearbeitet haben, gerade schwerlich als den anerkennen kann, mit welchem Cohendy, Bertrand und andere Autoren gearbeitet haben. Freilich liefert die von diesen Autoren für den von ihnen isolierten Bacillus bulgaricus angegebene kurze Charakteristik wenig Vergleichsmaterial, aber dennoch kann man schon daraus, daß ihr Mikroorganismus gut auf Kartoffeln wuchs, während der Bac. bulgaricus auf diesen nicht wächst, annehmen, daß die Autoren irrtümlich diese Bakterien identifizierten; eher ist ein anderes von ihnen unter dem Namen „Körnchenbacillus" beschriebenes Bakterium, welchen sie mit dem Bac. bulgaricus zu identifizieren sich scheuen, eben derjenige bulgarische Bacillus, mit dem sämtliche andere Autoren gearbeitet haben. Im Gegensatz zu allen hier angeführten Autoren treten ganz bestimmt, wenigstens für die Identität des sogenannten Bac. bulgaricus mit Steptobacillus Lebenis, bloß zwei Autoren ein, und zwar Guerbet in seiner Arbeit „Note sur la fermentation de Yoghurt" (Comptes rendu de la Société de Biologie. 1906. No. 10) und Mazé in seinem Artikel „Microbes dans l'industrie fromagère" (Annales de l'Institut Pasteur. 1905), doch den Namen des ersten Forschers, welcher den Bac. bulgaricus entdeckt hat, finden wir auch hier nicht.

Auf diese Weise will niemand sich bestimmt als Entdecker dieses Mikroben nennen; andererseits behaupten fast alle das Vorhandensein dieses Mikroben auch im „Leben d'Egypte"; die Bakterienflora des ägyptischen „Leben" ist aber, soweit aus der einschlägigen Literatur zu ersehen ist, zuerst eben von Rist und Khoury bereits im Jahre 1902 untersucht und beschrieben worden, d. h. früher, als der sogenannte Bac. bulgaricus beschrieben und bekannt wurde. Man muß annehmen, daß diejenigen Autoren, welche vorübergehend das Vorhandensein des Bac. bulgaricus auch im „Leben" erwähnen, die Befunde von Rist und Khoury im Auge hatten, und ist dem so, so steht offenbar nichts im Wege, diese Autoren als Entdecker des Bac. bulgaricus anzuerkennen, und ist kein Grund vorhanden, den ursprünglichen Namen des Mikroben, „Streptobacillus Lebenis", welchen dieser von den Autoren erhalten hat, mit irgendwelchen anderen Namen, wie „Bacille Massol", Bac. bulgaricus u. a. zu vertauschen, denn weder der Ort der ersten Isolierung, noch der Name des ersten Entdeckers stimmen damit überein.

Daß der Bacillus bulgaricus mit dem Streptobacillus Lebenis identisch ist, unterliegt keinem Zweifel, so sehr stimmen die Beschreibungen in der einschlägigen Literatur überein, und nicht Zufall ist es, daß sämtliche Autoren, welche den Bac. bulgaricus untersucht haben, ihn auch in der Bakterienflora des „Leben" nach der Beschreibung von Rist und Khoury erkannt haben; wäre das nicht der Fall, so würden wir wenigstens in der Literatur Angaben finden, daß die Daten von Rist und Khoury nicht das Vorhandensein des sogenannten Bac. bulgaricus im ägyptischen „Leben" bestätigen, doch, soweit mir bekannt ist, gibt es solche Angaben nicht.

Vergleicht man die Merkmale des Bac. bulgaricus nach Cohendy und anderen Autoren mit der Rist und Khouryschen Beschreibung des Streptobacillus Lebenis, so findet man eine vollständige Uebereinstimmung in Form und Dimensionen der Mikroben; beide sind unbeweglich, tragen keine Sporen, wachsen nicht auf den üblichen Peptonnährböden, nicht auf Kartoffeln, verflüssigen nicht die Gelatine, beide grampositiv, beide wachsen aërob und anaërob, beide sterben bei Thermostattemperatur auf dem Nährboden relativ schnell ab und leben länger bei Zimmertemperatur, beide bilden charakteristische Kolonieen auf Milchmolkeagar usw. Wer selbst mit dem Bac. bulgaricus gearbeitet hat, der kennt das charakteristische Verhalten dieses Mikroben sehr gut; ihn mit anderen zu verwechseln, ist unmöglich, ebenso wie es unmöglich ist, ihn in dem Rist und Khouryschen Bakterium, Streptobacillus Lebenis, nicht zu erkennen. Freilich, was die Energie der Säureproduktion in Milch anbelangt, so machen Rist und Khoury nicht solche ausführliche Angaben zur Charakteristik des Streptobacillus Lebenis, wie solche für den Bac. bulgaricus vorhanden sind, aber dieses kann durchaus nicht als Hindernis für die Identifizierung der Mikroben gelten. Wäre das anders, so würde die Artbestimmung der Bakterien bei der üblichen Unvollkommenheit der Beschreibungen oder sogar bei Abwesenheit irgendwelcher einzelner Daten überhaupt unmöglich sein, und unter solchen Verhältnissen würde eine ungeheure Anzahl von Arten beschrieben sein, unter welchen ein und dieselben Arten unter verschiedenen Namen figurieren würden. Andererseits sind schon diejenigen Merkmale, welche Rist und Khoury zur Charakteristik der milchsäurebildenden Natur ihres Mikroorganismus angeben, summiert mit allen anderen Eigenschaften vollkommen genügend zur endgültigen Identifizierung des Streptobacillus Lebenis mit dem Bac. bulgaricus; ihr Mikrobe erzeugt in Milch Milchsäuregärung, und zwar sehr energische, denn schon nach 6 Stunden bei 37° C gerinnt die Milch bei ausgesprochen saurer Reaktion.

Auf Grund sämtlicher angeführter Erwägungen wird es vollkommen gerecht und zweckentsprechend sein, nunmehr zur Vermeidung weiterer Mißverständnisse bei der Bestimmung und Benennung des sogenannten Bac. bulgaricus ihm seinen wahren Artnamen Streptobacillus Lebenis, welchen er von Rist und Khoury, die ihn zuerst im ägyptischen „Leben“ nachgewiesen haben, erhalten hat, zu lassen.

Weiter möchte ich in Anbetracht der äußerst unvollkommenen morphologischen Beschreibung des Streptobacillus Lebenis in der Literatur einige Lücken hier ausfüllen. Ich arbeitete mit dem Bac. bulgaricus in Kulturen aus 4 verschiedenen Orten. Die ersten 2 Kulturen hatte ich aus dem Moskauer Bakteriologischen Institut an der Universität und aus dem Petersburger Institut für experimentelle Medizin, wobei diese beiden Kulturen unmittelbar aus dem Laboratorium von Prof. Metschnikoff stammten; später erhielt ich abermals eine Reinkultur aus dem Institut für experimentelle Medizin und wiederum mit der Angabe über Abstammung derselben aus dem Metschnikoffschen Laboratorium. Das erste, was mir bei der Untersuchung dieser Kulturen in Milch auffiel, war ihre Eigenschaft, neben energischer Milchsäureentwickelung die Milch in eine kompakte schleimige Masse zu verwandeln, so daß dieses Bakterium als typischer Repräsentant jener Bakteriengruppe gelten kann, welche den seit langem bereits bekannten Milchfehler, die sogenannte schleimige Milch, verursacht; diese Eigenschaft fiel mir deswegen auf, weil ich in der Literatur nirgends einen Hinweis auf diese charakteristische, nicht zu übersehende Eigenschaft

dieses Mikroorganismus gefunden habe. In der Folge hatte ich bereits echte bulgarische Sauermilch „Yoghurt“ zur Verfügung, mitgebracht von verschiedenen Personen zu verschiedener Zeit, die eine aus Bulgarien, die andere aus Serbien. Aus der einen Probe habe ich in Reinkultur Streptobacillus Lebenis mit derselben schleimig machenden Eigenschaft, wie in den ersten drei Kulturen, nachgewiesen, dementgegen habe ich aus der anderen Probe denselben Mikroorganismus, aber bereits ohne jegliche schleimig machende Merkmale, isoliert; das Milchgerinnsel nach Bebrütung mit diesem Mikroben war ganz das nämliche, wie bei dem gewöhnlichen Milchsäurebildner B. lactis acidi. Daß diese Bakterien auch in allen übrigen Merkmalen ganz identisch waren, davon überzeugte ich mich durch vergleichende Versuche, ein Unterschied in den Merkmalen existierte, aber, wie aus dem Folgenden ersichtlich sein wird, war derselbe so gering, daß nur von einer Rassenveränderung des Streptobacillus Lebenis die Rede sein kann.

Soweit aus der Literatur hervorgeht, haben sämtliche Autoren mit einem bulgarischen Bacillus ohne schleimigmachende Eigenschaft gearbeitet, denn keiner von den mir bekannten Autoren erwähnt, wie oben gesagt, etwas von diesem Merkmal, dabei ist es unmöglich, eine so charakteristische Besonderheit einer Bakterienart zu übersehen oder zu ignorieren, Rist und Khoury erwähnen auch nichts von einer schleimigmachenden Fähigkeit des Streptobacillus Lebenis. Andererseits aber ist es ganz unerklärlich, auf welche Weise in den russischen Laboratorien ausnahmslos ein bulgarischer Bacillus mit scharf ausgesprochener, Milch schleimigmachender Eigenschaft zu zirkulieren begann, und dabei ein aus dem Metschnikoffschen Laboratorium stammender Mikroorganismus, aus dem man doch eine nicht schleimigmachende Rasse erwarten sollte, denn Cohendy, welcher mit dem B. bulgaricus in diesem Laboratorium gearbeitet hat, spricht in seinen Arbeiten kein Wort über die Eigenschaft dieses Bacillus, die Milch schleimig zu machen; ebenso haben Bertrand und Weisweiller mit einer aus dem Metschnikoffschen Laboratorium bezogenen Kultur gearbeitet und erwähnen auch nichts von dieser Eigenschaft des Bacillus.

Diesen Widerspruch ungeklärt lassend, schritt ich zu einem vergleichenden Studium der mir zur Verfügung gewesenen Kulturen des Streptobacillus Lebenis und suchte vor allem die Frage zu lösen, ob sie die Eigenschaft haben, Milch schleimig zu machen oder nicht. Ein Zeitraum von vielen Monaten, für einzelne Kulturen sogar ein ganzes Jahr, während dessen ich mit diesen Kulturen arbeitete, hat mich von der großen Stabilität dieses Merkmales überzeugt, d. h. — falls die Kultur eine schleimigmachende war, so behielt sie diese Eigenschaft unumwandelbar, ebenso wie eine nicht schleimigmachende niemals Spuren von Schleimbildung aufwies; noch mehr — sogar der mehr oder weniger hohe Grad von Schleimbildung wird von jeder Kultur sehr konstant beibehalten. So zeigte die von mir aus dem Yoghurt isolierte, schleimig machende Rasse den höchsten Grad von Schleimbildung im Vergleich zu den anderen, schleimigmachenden Kulturen, letztere waren in dieser Beziehung ungefähr gleich, und dieser Unterschied blieb bei jeder Ueberimpfung konstant. Allerdings lassen sich Unterschiede in der Dichtigkeit des schleimigen Milchgerinnsels konstatieren, d. h. bei täglichen Ueberimpfungen, im Verlaufe von mehreren Monaten, kann man beobachten, wie ein sehr dichtes, mit der Pipette z. B. schwer aufzusaugendes Milchgerinnsel nach einiger Zeit plötzlich flüssiger wird und relativ leicht mit der Pipette genommen wird und später wiederum auf unerklärliche Weise sehr dicht wird; doch

diese Veränderung steht nicht im Zusammenhang mit dem jeweiligen Grade der Schleimbildung, sondern damit, in welchem Maße das Peptonisierungsvermögen, welches diesem Bacillus bekanntermaßen eigen ist, zum Vorschein kommt. Bisweilen ist in den Reagenzgläsern direkt zu sehen, wie ganze Partieen des Milchgerinnsels peptonisiert sind, anderemale aber ist diese Erscheinung gar nicht vorhanden; im ersteren Falle wird das Gerinnsel flüssig, im zweiten dicht, doch der Grad des Schleimigwerdens oder der Zähflüssigkeit der Schleimfäden beim Fassen mit der Platinöse bleibt sich offenbar gleich.

Weiterhin machte ich den Versuch, bei einer nicht schleimig machenden Kultur künstlich die Eigenschaft, Milch schleimig zu machen, zu erzeugen, und umgekehrt bei einer schleimig machenden diese Eigenschaft zu vernichten. Dazu bewog mich einerseits die Erwägung, daß Kulturen, welche sich nur durch dieses Merkmal unterscheiden, und darum bloß eine Rassenveränderung einer und derselben Species repräsentieren, anscheinend dieses Rassenmerkmal relativ leicht ändern müßten, und andererseits standen mir einzelne Beobachtungen zur Verfügung, wo eine nicht schleimig machende Rasse, welche in Milch zusammen mit dem gewöhnlichen Erreger der spontan gerinnenden Milch, B. lactis acidi, vegetierte, unerwartet die Milch mit nicht zu erkennender Verschleimung säuerte; bedauerlicherweise waren das vereinzelte Fälle, an denen ich vorüberging, weil mich zu der Zeit diese Frage überhaupt nicht interessiert hat. Jetzt wollte ich, eingedenk dieser Fälle, diese Erscheinung künstlich erzeugen, aber vergebens. Anfangs versuchte ich es, die Stabilität dieses Merkmales zu verändern, indem ich Milchkulturen auf Agar und Cohendysche Bouillon überimpfte, auf diesen Nährböden einige Male umimpfte und dann wieder auf Milch überimpfte, doch behielten die Kulturen ihre Eigenschaft, Milch schleimig zu machen, oder nicht, jedesmal unverändert bei. Ferner züchtete ich Kulturen auf Cohendyscher Boillon streng anaërob, in einer Wasserstoffatmosphäre, und wenn die Kulturen gediehen, so impfte ich damit Milch aërob, doch jedesmal gerann die Milch mit den für die betreffende Kultur eigentümlichen Merkmalen. Als ich solche anaërobe Impfungen auf Milch fortsetzte, wobei die einen Reagenzgläser die eine oder andere Rasse in Reinkultur, die anderen gemeinsam mit B. lactis acidi enthielten, gerann die Milch stets mit den für die betreffende Kultur eigentümlichen Merkmalen des Schleimigwerdens, ganz gleich ob eine Kultur des Streptobacillus Lebenis allein oder zusammen mit B. lactis acidi genommen wurde; bei Ueberimpfungen aus solcher anaërober Milch in aërobe erhielt man wiederum entsprechende Gerinnsel. Ferner ließ ich Reinkulturen dieser Rassen eintrocknen, säte solche Kulturen auf Cohendy-Agarplatten aus, aus den erhaltenen Kolonieen impfte ich auf aërobe Milch und erhielt wiederum von der Trockenkultur des Schleimbildners schleimige Milch und von dem nicht schleimbildenden nicht schleimige Milchgerinnung. Schließlich prüfte ich den Einfluß einer hohen Temperatur von 40—41° C auf aërobe Kulturen in Milch, in welche die zu prüfenden Rassen sowohl einzeln, als auch gemeinsam mit B. lactis acidi übertragen wurden; unter diesen Verhältnissen hielten sich die Kulturen 12 Stunden, in welchem Zeitraum die Milch stets zur Gerinnung kam, doch zeigten die Gerinnsel wiederum Merkmale entsprechend der Natur der betreffenden Kulturen. Auf diese Weise vermochten es alle diese Experimente nicht, eine schleimig machende Rasse in eine nicht schleimige oder umgekehrt zu verwandeln, so sehr fest haftet diese Eigenschaft, Milch schleimig zu machen oder nicht, an diesen Rassen.

Nun will ich die Ergebnisse darlegen, welche ich bei vergleichendem Studium des Wuchses meiner Kulturen von Streptobacillus Lebenis auf diversen Nährböden erhalten habe. Der Zweck dieser Arbeit war, zu beweisen, daß alle diese Kulturen einer Bakterienspecies angehören, und zwar dem Streptobacillus Lebenis, und zweitens die über diesen Mikroorganismus vorhandenen dürftigen Kenntnisse teilweile zu ergänzen. Einer vergleichenden Untersuchung unterzog ich nicht alle meine Kulturen, sondern bloß drei, welche sich durch irgend ein auch noch so geringes Merkmal voneinander unterschieden, und zwar waren das eine Milch schleimig machende Kultur, bezogen aus dem Moskauer Bakteriologischen Institut, zur Abkürzung mit dem Buchstaben a bezeichnet; eine noch stärker schleimig machende, aus Yoghurt isolierte Kultur b und schließlich eine gar nicht schleimbildende, von mir ebenfalls aus Yoghurt isolierte Rasse c. Die beiden übrigen aus dem Institut für experimentelle Medizin bezogenen Kulturen wurden, angesichts ihrer vollständigen Identität mit der aus dem Moskauer Institut, nicht detailliert untersucht.

Sehr charakteristisch für den betreffenden Mikroorganismus sind die Plattenkolonieen. Zu bemerken ist, daß auf festen Nährböden dieses Bakterium überhaupt dürftig gedeiht. Auf Nährgelatine geht der Mikrob weder im Stich, noch im Ausstrich bei Zimmerwärme auf, im Stich läßt sich noch ein kaum angedeutetes Wachstum wahrnehmen; er wächst auch dann nicht, wenn zur Gelatine Glukose oder Milchzucker zugesetzt sind. Es läßt sich nicht annehmen, daß hier die nicht zusagende Temperatur die Hauptrolle spielt; bei diesem Wärmegrade wächst ja das Bakterium, wenn auch sehr langsam. Ein Reagenzgläschen mit Milch z. B., bebrütet mit der Rasse a, zeigte Milchgerinnung bei Zimmerwärme nach 12 Tagen, während auf den obengenannten Nährmedien auch nach 20 Tagen kein Wachstum sichtbar war. Auf Nähragar war bei 30° C im Ausstrich auch kein Wachstum vorhanden, im Stich aber wohl ein dürftiges, auf Kartoffeln gar kein Wachstum. Bei Aussaat auf Nährgelatineplatten bei Zimmerwärme keine Entwickelung von Kolonieen, aber auf Nähragar bei 30° C Kolonieenbildung, wenn auch nicht immer; besser entwickeln sich Kolonieen auf Milchagar, ebenso auf Bohnendekoktagar mit 4 Proz. Rohrzuckerzusatz. Alles dieses bezieht sich in gleicher Weise auf sämtliche Kulturen der Parallelversuche. Die Kolonieenbildung geschieht am besten auf Agar nach Cohendy, aber auch hier ist das Wachstum im allgemeinen ein nicht sehr üppiges und übertrifft wenig dasjenige auf den obengenannten zwei letzten Nährmedien.

Die Kolonieen der nicht schleimig machenden Rasse c auf Cohendy-Agar bei 30° C haben bei 80-facher Vergrößerung folgendes Aussehen: In den ersten Stadien sehr kleine, hellgelbe, leicht gekörnte Körperchen von länglicher oder kugeliger Form, mit dunklen, glatten Rändern, welche später nach allen Seiten hin zarte, gewundene Wimperchen aussenden, diese verschlängeln sich und bilden schließlich gleichsam ein ganzes Knäuel aus verflochtenen Fäden; an den so entstandenen Knäueln ist das ursprüngliche Körperchen, von dem jedes Knäuel hervorgegangen ist, schon nicht mehr zu sehen. Nach 2 Tagen werden die Knäuel etwas größer, bräunlichgrau, wobei im zentralen Teil des Knäuels, wo die Kultur reichlicher zunimmt, die Färbung bedeutend dunkler ist, und deswegen läßt sich hier die ursprüngliche Struktur der verflochtenen Fäden bereits nicht mehr erkennen, während dieselbe an der Peripherie, wo die Färbung heller ist, deutlich zu sehen ist. Das alles bezieht sich auf die Kolonieen in der Tiefe des Substrates. Was die Oberflächenkolonieen anlangt, so bilden sich anfangs hier auch solche Knäuel, doch später (nach 48 Stunden)

entstehen ringsum an den Rändern Auswüchse in Form zarter, farbloser, lockiger Ausbuchtungen; im allgemeinen erinnert diese farblose Masse an ein feines Stückchen zerfaserter Watte. Nach 3 Tagen dasselbe Bild in der Tiefe, bei den Oberflächenkolonieen wird der zentrale Teil heller, weniger dicht, und dann sieht man hier nicht selten wieder die ursprüngliche haarige Struktur; an der Peripherie der Knäuel erhält die Kultur das charakteristische Aussehen farbloser oder leicht gefärbter, gewundener Locken; öfters sind die Locken schwach ausgeprägt und dann erscheint die ganze Kolonie wie ein schwach gefärbtes, feingekörntes Wölkchen. Makroskopisch sind die Kolonieen rund, ganz flach, wie ein feiner Belag, bei durchfallendem Licht perlmutterartig. In der Folge bleiben die Kolonieen unverändert.

Die schleimig machende Rasse a erzeugt im allgemeinen dasselbe, wie c, nur erscheinen die Kolonieen um 24 Stunden später. Anfangsstadium (nach 48 Stunden) Körperchen ohne Wimpern, meistens unregelmäßig rund, mit etwas buchtigen Umrissen, welche dabei nicht so scharf sind, wie bei c, die Wimperchenbildung ist schwächer, ihrer sind nicht viele, und darum erhält man nicht den Eindruck eines so dichten Fadenknäuels, wie bei c, viele Kolonieen sind zu der Zeit sogar ganz ohne Fäden; solche Kolonieen sind etwas größer, ihre Färbung ist dunkler, die Struktur merklich gekörnt, außerdem ist ihre Oberfläche runzelig, einigermaßen höckerig, was bei c nicht der Fall ist. Die Wimperchenbildung ist, wie gesagt, schwach und darum fehlen vollständig solche kugelige Knäuel wie bei c, die Wimperchen vereinigen sich zu einem seichten Spinngewebe, unregelmäßig nach allen Seiten hin auslaufend, ohne ein bestimmtes Muster; deswegen sieht man bei allen Kolonieen stets das Zentralkörperchen, von dem die Wimperchen ausgehen. Derartig sind die Kolonieen in der Tiefe. Die Oberflächenkolonieen haben ursprünglich dasselbe Aussehen, aber im folgenden Stadium geht eine Lockenbildung, wie bei c vor sich, nur sind die Locken hier wohl schärfer ausgeprägt, als bei c. Makroskopisch haben die Kolonieen nicht solche scharfe Umrisse, wie bei c und sind nicht regelmäßig rund, sondern erscheinen als kleine, sehr feine Flocken.

Die Kolonieen der Kultur c erscheinen nach 24 Stunden; die wimperlosen Körperchen des Anfangsstadiums sieht man hier zu dieser Zeit gar nicht, es gibt bloß Häufchen verflochtener Wimperchen, aber nicht als Knäuel, wie bei c, sondern von unregelmäßiger Form; die Färbung der Kolonieen ist eine dunkelbraune, dunkler im Zentrum und heller an der Peripherie, im zentralen Teil der Kolonieen sieht man, offenbar infolge stärkerer Aufschichtung der Kultur, fast gar keine Wimpernstruktur, man sieht hier einfach eine gekörnte Masse, doch näher zur Peripherie, wo die Kulturschicht flacher und heller ist, ist diese Struktur aus verflochtenen Wimpern deutlich zu erkennen; die Form der Kolonieen ist eine stärker unregelmäßige, als bei a. Bei den Obenflächenkolonieen bilden sich später Locken, diese sind zart, farblos oder leicht gefärbt.

Nicht weniger eigentümlich ist das Aussehen der Kolonieen auf Cohendy-Gelatine, bei allen drei Kulturen ist es ganz dasselbe. Die Kolonieen erscheinen bei Zimmerwärme gewöhnlich nach 2—3 Tagen, und wenn es warm ist, sogar nach 24 Stunden; die Kolonieen sind sehr klein, oval, länglich oder unregelmäßig geformt, mit fein- oder grobgezackten Rändern, letztere in Form abstechender, fast schwarzer, ziemlich breiter Reifen; die Färbung ist im Zentrum häufig intensiver, als an der Peripherie und erscheint gleichsam als Fleck. Nicht selten ist die Kolonie in der Mitte durch einen dunklen Streifen, wie durch eine

Scheidewand, in zwei Abschnitte geteilt, in jedem besonderen ein gefärbtes Fleckchen und abstechender Hof; im allgemeinen erinnert alles dieses an eine Zelle im Stadium der Teilung. In der Folge werden die Kolonieen fast nicht größer, aber bei einzelnen Kolonieen wird das Oberflächenbild durch neuerscheinende dunkle Furchen, dunkle und helle Partieen so kompliziert, daß es schwer fällt, es irgendwie zu charakterisieren. Die Oberfläche wird einfach wie höckerig, die Umrisse werden mit dem Erscheinen neuer Auswüchse und Ausbuchtungen ebenfalls sehr unregelmäßig; solche Kolonieen machen im allgemeinen den Eindruck von kleinen Steinchen irgend eines dunkelgefärbten Minerals. Sämtliche Kolonieen liegen offenbar in der Tiefe des Substrates, ein Oberflächenwachstum gibt es nicht; makroskopisch sind die Kolonieen kaum zu bemerkende Körnchen, so schwach ist ihre Entwickelung; Gelatine wird von ihnen nicht verflüssigt.

Somit ist das Aussehen der Kolonieen für alle drei Kulturen des Parallelversuches, mit Ausnahme sehr geringer und bedingter Details, ein gleiches und sehr eigentümliches; letzteres läßt diese Bakterienspecies sofort erkennen.

Striche auf Cohendy-Agar bei 30° C sind schon nach 24 Stunden angedeutet, aber ganz formiert erscheinen sie nach 48 Stunden, und dann sind sie bei allen Kulturen gleich: Sehr feine, schmale, grauweiße Streifchen, bei der Kultur c ist der Strich noch einigermaßen stärker. Uebrigens sei bemerkt, daß die Striche nicht immer nach 24 Stunden erscheinen, bisweilen erscheinen sie nach 2 oder sogar 3 Tagen in Abhängigkeit davon, woraus geimpft worden war, ob aus einer Milch- oder Bouillonkultur, oder aus Strichen. Mikroskopisch bestehen diese Striche bei den Kulturen a und b aus Stäbchen von verschiedener Länge, gerade gibt es beinahe nicht, alle sind sehr verschiedenartig gewunden; was die Dicke anlangt, so findet man nicht selten in einem Gesichtsfelde zweimal so dicke Stäbchen, als die Mehrzahl der anderen, bisweilen gibt es in einem Faden dickere, gedunsene Stellen und dünnere, wie bei Involutionsformen. Das Protoplasma ist im allgemeinen (bei 500—600-facher Vergrößerung) homogen, doch begegnet man Stäbchen und Fäden mit ganz vakuolisierten Abschnitten, wo man bloß die Membran sieht; andererseits begegnet man sporenähnlichen Partieen mit festem Protoplasma. Bei der Kultur c verhält sich alles ebenso, nur bemerkt man mehr lange und sehr lange, nicht selten zu Schlingen oder ganzen Knäueln vereinigte Fäden.

Ausstriche dieser Kulturen auf Cohendy-Gelatine gehen bei Zimmerwärme nicht auf, Stiche zeigen nach 2 Tagen ein kaum zu sehendes, in der Folge nicht zunehmendes Wachstum.

Was flüssige Nährböden anbelangt, so entwickeln sich die Kulturen nicht in Fleischpeptonbouillon und Bierwürze. Gute Entwickelung in Cohendy-Bouillon. Gewöhnlich erzeugt in letzterer Bouillon bei 30° C nach 24 Stunden keine Kultur eine Trübung, die Bouillon bleibt vollkommen klar; nach 48 Stunden ist bei c die Bouillon stark getrübt, bei a schwach, bei b ganz klar; nach 72 Stunden wird bei c die Bouillon etwas klarer, auf dem Boden ein reichlicher Niederschlag, welcher beim Schütteln sich leicht erhebt und in der Flüssigkeit verteilt, bei a ist die Bouillon sehr getrübt, wie bei c am zweiten Tage, der Bodensatz auch reichlich und hat denselben Charakter, bei b ist die Bouillon schwach getrübt, auf dem Grund ein kleiner, leicht sich erhebender Satz; nach 5 Tagen ist das Aussehen der Bouillon dasselbe. Mikroskopisch nach 2—3 Tagen bei c Stäbchen von verschiedener Länge, aber keine langen Fäden, die Stäbchen mit abgehackten Enden, in sichtbarer Teilung, das

Protoplasma homogen; bei a dasselbe, aber die Stäbchen im allgemeinen länger, Fäden vorhanden, Stäbchen mehr gekrümmt, Protoplasma bei einzelnen gekörnt; bei b noch längere und mehr gekrümmte Fäden, bisweilen Schlingen bildend, Protoplasma noch mehr gekörnt, einzelne Stäbchen von unregelmäßiger Form, kolbig, im übrigen dasselbe. Alle färben sich gleich gut nach Gram.

Das mikroskopische Bild eintägiger Kulturen in Milch ist im gefärbten wie im ungefärbten Präparate folgendes: Bei c ist die Mehrzahl der Stäbchen kurz, aber die Minderheit lang, Protoplasma sichtbar, nicht homogen, bei Färbung mit Methylenblau z. B. sieht man an den Stäbchen viele farblose oder schwach gefärbte Partieen und umgekehrt intensiv gefärbte Stellen; Kultur a hat die längsten Stäbchen, häufig Fäden, kurze Stäbchen sind beinahe gar nicht vorhanden, färbt sich am gleichmäßigsten, wenngleich auch hier hin und wieder schwach gefärbte Partieen vorkommen; b hat die kürzesten Stäbchen, lange gibt es hier gar nicht, Färbung noch ungleichmäßiger, als bei c, die Stäbchen haben neben den schwächer gefärbten eine Masse intensiv gefärbter, wie regelmäßige Kernchen aussehender Stellen, als ob die Stäbchen gleichsam Sporen enthielten.

Streng anaërob in Wasserstoffatmosphäre, in Cohendy-Bouillon und in Milch vegetieren alle Kulturen ausgezeichnet Die anaëroben Kulturen wurden in Pasteurschen anaëroben Röhrchen mit 10 ccm Nährsubstratgehalt zubereitet; mit der Heysslerschen Quecksilberpumpe wurde eine starke Luftverdünnung erzeugt mit nachfolgender mehrmaliger Durchwaschung der Röhrchen vermittelst eines Stromes gereinigten Wasserstoffes, dann wurden die mit Wasserstoff gefüllten Röhrchen zugeschmolzen. Nach Bebrütung der Substrate mit eintägiger Milchkultur kamen die Röhrchen in den Thermostaten bei 30° C. Nach 24 Stunden ist die Bouillon bei allen Kulturen klar, nur bei a bemerkt man hängende Flocken bei klarer Bouillon; nach 48 Stunden ist die Bouillon bei a schwach getrübt, doch auf dem Boden ein reichlicher schleimiger Satz, welcher beim Schütteln sich als langer, zähflüssiger Strahn schwer vom Boden erhebt und schwer sich in der Bouillon verteilt, bei b ist die Bouillon ganz klar, aber auf dem Boden ein ziemlich reichlicher, sich leicht loshebender und in der Flüssigkeit verteilender Satz, wenn er auch nur in kleine Flocken zerfällt; bei c ist noch keine Entwickelung; nach 72 Stunden ist die Bouillon bei a stark getrübt und, wie früher, mit reichlichem schleimigen Bodensatz; bei b Bouillon schwach getrübt, Bodensatz noch größer, doch von demselben Charakter wie am 2. Tage; bei c Bouillon stark trübe mit geringem, beim Schütteln leicht sich loshebenden und verteilenden Bodensatz. Mikroskopisch bei a Stäbchen von verschiedener Länge, viele lange Fäden, Stäbchen meist schwach gebogen, Protoplasma homogen; bei c im allgemeinen dasselbe, nur begegnet man häufiger Stäbchen mit nicht homogenem Protoplasma, doch ist letzteres nicht scharf ausgeprägt, Stäbchen stärker gewunden und kürzer; am interessantesten ist das Aussehen bei b, hier meist längere stark gewundene Fäden, häufig in Schlingen und ganzen Knäueln, bei der Mehrzahl das Protoplasma homogen, doch nicht selten begegnet man Fäden, bei denen das scharf veränderte Protoplasma in eine Reihe regelmäßiger Kernchen zerfällt, und dann sieht der Faden wie eine Kette aus. Dort, wo ein Fadenknäuel war, ergeben solche deformierte Fäden ein Konglomerat von kaviarartiger Körnchensubstanz, und bloß, wenn man aufmerksamer zusieht, kann man erkennen, daß diese Körnchensubstanz in einer gewissen Anordnung entlang den früher vorhanden gewesenen

Fäden verteilt ist, was auch an einzelnen Fäden in verschiedenen Stadien der Entwickelung dieser Körnchensubstanz bis zu den in der gekörnten Masse eingeschlossenen ganz regelmäßigen Fäden mit homogenem Protoplasma zu sehen ist; viele Körnchen, häufig diplokokkenartig, schwimmen gesondert, d. h. hier wird bereits ein weiterer Zerfall der Ketten in Kokken beobachtet. Derartig ist das Bild in anaërober Bouillon.

Was die anaërobe Milch bei 30° anlangt, so hatten die Impfungen von 3 Uhr nachmittags bis 12 Uhr nachts die Milch noch nicht koaguliert, um 9 Uhr morgens war die Milch bei allen Kulturen koaguliert, nur bei a war das Gerinnsel oberhalb noch etwas flüssig. Mikroskopisch das gleiche Bild, wie in aërober Milch.

Keine einzige Kultur hat jemals unter irgend welchen Verhältnissen Sporen gebildet oder aktive Bewegung wahrnehmen lassen.

Das sind die morphologischen Daten, welche mir zur Charakteristik der 3 zu vergleichenden Kulturen des Bacillus bulgaricus zur Verfügung stehen. Diese Daten sprechen deutlich zugunsten einer vollkommenen Identität der untersuchten Kulturen; sämtliche oben angeführten Unterschiede sind so gering, so bedingt, daß sie nicht die Grenze der Rassenveränderungen überschreiten, wenn man nicht mehr sagen will, daß alle diese Unterschiede einfach einen zufälligen Charakter haben können und bei mehrmaliger Wiederholung dieser Beobachtungen vielleicht in Abhängigkeit von einer Menge nebensächlicher, häufig nicht zu konstatierender Umstände variieren werden. Es bleibt nur ein bei unseren Versuchen konstantes Merkmal übrig, das ist die Fähigkeit, die Milch schleimig zu machen oder nicht, doch auf dieses basierend, wird es wohl kaum richtig sein, 2 Bakterienarten anzuerkennen, sogar wenn dieses Merkmal wirklich so außerordentlich konstant sein sollte, aber auch dieses letztere läßt sich nicht behaupten, denn wir hatten, wie oben gesagt, einige Beobachtungen, welche dagegen sprechen. Andererseits habe ich selbst gelegentlich beobachtet, wie eine Kultur einer näher nicht bestimmten Bakterienspecies, welche die stark ausgesprochene Fähigkeit besaß, Milch schleimig zu machen, nach Verlauf eines Jahres diese Eigenschaft endgültig verloren hat, mit anderen Worten: Dieses Merkmal ist überhaupt nicht derartig, daß man darauf eine Artunterscheidung basieren könnte. Indem wir somit bloß einen Rassenunterschied zwischen dem schleimig machenden und nicht schleimig machenden Mikroorganismus anerkennen, finden wir andererseits auf Grund sämtlicher oben angeführten morphologischen Daten eine vollständige Identität des sogenannten Bacillus bulgaricus mit dem schon früher von Rist und Khoury beschriebenen Streptobacillus Lebenis.

Zum Schluß noch 2 Versuche, in denen ich das Zunehmen des Säuregrades der Milch vergleichend kontrollierte bei Bebrütung mit der schleimig machenden Rasse a, mit der von mir isolierten nicht schleimig machenden Rasse c und mit dem gewöhnlichen Milchsäurebildner Bac. lactis acidi. Letztere Kultur nahm ich aus frisch von mir ausgeschiedenen Kulturen des Bac. lactis acidi, unter denen ich die mit größter Milchsäuregärungsenergie auswählte. Der erste Versuch wurde so angestellt: 22 Erlenmeyersche Kolben mit je 100 ccm Milch wurden im Autoklaven 10 Minuten lang bei 1 Atmosphäre sterilisiert, danach 7 mit der Kultur a, 7 mit c und 7 mit Bac. lactis acidi geimpft, danach kamen alle in den Thermostaten bei 30° C. Die Impfung geschah mit einer Platinöse frischer, 1-tägiger, geronnener Milchkultur des entsprechenden Mikroben. Während der ersten 15 Stunden wurde der Säuregrad der Milch in den bebrüteten Kölbchen jede 3 Stunden,

später nach 25 und 75 Stunden bestimmt. Der Säuregrad wurde nach Terner bestimmt; die unten angegebenen Ziffern zeigen die Säuregrade an, d. h. die Menge der Kubikzentimeter $^1/_{10}$ normaler Natronlauge, welche zur Neutralisierung von 100 ccm Sauermilch nötig war. Im letzetn 22., nicht geimpften Kölbchen mit steriler Milch erwies sich der Säuregrad der Milch vor dem Versuche 22° hoch. Die Resultate des Versuches sind folgende:

Stunden	3	6	9	12	15	25	75	7 Tage
Schleimig machende a	22	22	22	23	24	72	237	7 „
Nicht schleimig machende c	23	23	23	25	41	92	164	7 „
Bac. lactis acidi	23	23	32	63	80	95	104	7 „

Die Milch erwies sich koaguliert bei der Rasse a in dem Zeitraum zwischen 15 und 25 Stunden, bei c gleichfalls zu der Zeit, bei Bac. lactis acidi zwischen 9 und 12 Stunden. Betrachtet man die Entwickelung der Milchsäuregärung in den ersten 15 Stunden, so ist es nicht schwer, zu konstatieren, daß die Rasse a in diesem Zeitraum gar keine Energie entfaltet, der Milchsäuregrad der Milch ist bloß um 2° gestiegen, um 3 Stunden kürzer ist die Inkubationsperiode bei der nicht schleimig machenden Rasse und noch kürzer bei Bac. lactis acidi. In der Folge steigt bei der schleimig machenden Rasse nach einer Vegetationszeit von 25 Stunden die Energie rapid an und bringt es zu einem Säuregrad bis zu 72°, d. h. das Dreifache gegenüber der letzten Bestimmung. Der Bac. lactis acidi erregt, abweichend von den zwei ersten, eine gleichmäßigere Milchsäuregärung und bringt es in 25 Stunden zu einem Säuregrad von 95°. Es folgt daraus, daß in den ersten 25 Stunden, was Energie der Milchsäurebildung anlangt, die erste Stelle der Bac. lactis acidi einnimmt, auf ihn folgt die etwas schwächere, nicht schleimig machende Rasse und an letzter Stelle der schleimig machende Mikroorganismus mit merklich geringerer Energie der Milchsäurebildung. In der Folge jedoch wechselt das Bild scharf, nach 3 Tagen nimmt der schleimig machende Mikrobe in bezug auf Milchsäurebildung die erste Stelle ein, indem er einen außerordentlich hohen Säuregrad von 237° aufweist, an zweiter Stelle steht die nicht schleimig machende Rasse, welche einen merklich geringeren Säuregrad gegenüber dem ersten Mikroben zeigte, und noch schwächer in dieser Beziehung erwies sich der Bac. lactis acidi.

Nach einer Woche wurde ein ganz analoger zweiter Versuch mit denselben Kulturen, aber mit folgenden Ergänzungen angestellt: Neben den Beobachtungen an jeder Kultur im einzelnen wurden diese noch kombiniert, und zwar die schleimig machende Rasse + Bac. lactis acidi und die nicht schleimig machende + Bac. lactis acidi. Außerdem wurden noch meine 2 Kulturen des Strept. Lebenis eingeführt, und zwar die am stärksten schleimig machende, von mir aus Yoghurt isolierte, oben als b beschriebene Rasse, und schließlich eine nicht schleimig machende Rasse, dieselbe, welche auch an dem ersten Versuche beteiligt war, doch jene wurde im Verlaufe mehrerer Monate einmal wöchentlich umgeimpft, während die jetzt eingeführte Kultur im Laufe derselben Monate täglich umgeimpft wurde; sie sei mit c^1 bezeichnet. Uebrigens wurde bei diesen zwei neuen Kulturen die Milchsäurebildung bei c^1 nur zweimal, nach 25 Stunden und 7 Tagen, und bei der Rasse b nur einmal, nach 25 Stunden, beobachtet. Die Impfungen wurden, wie auch im ersten Versuche, mit je einer Platinöse (auf 100 ccm Milch) einer eintägigen Milchkultur ausgeführt; dort, wo die Mikroben kombiniert waren, wurde von jeder Kultur ebenfalls je eine Platinöse genommen. Der ursprüngliche Säuregrad der Milch war 20°. Das Resultat des Versuches war, wie folgt:

Stunden	3	6	9	12	15	25	75	7 Tage
Schleimig machende a	20	20	20	20	22	42	—	290
Nicht schleimig machende c	20	20	20	22	28	92	—	175
Bac. lactis acidi	20	20	24	39	72	95	—	100
a + Bac. lactis acidi	20	20	24	42	70	96	—	—
c + Bac. lactis acidi	20	20	23	38	78	106	—	—
Schleimig machende b	—	—	—	—	—	56	—	—
Nicht schleimig machende c^1	—	—	—	—	—	96	—	161

In der Zwischenzeit von 12 und 15 Stunden war die Milch überall koaguliert, wo die Kultur des Bac. lactis acidi beteiligt war; zwischen 15 und 25 Stunden kam es zur Gerinnung bei den Kulturen c und c^1, bei den schleimig machenden Kulturen noch später. Betrachten wir die angegebenen Ziffern, anfangs für die Kulturen a, c und Bac. lactis acidi, so finden wir eine vollständige Uebereinstimmung mit den analogen Ergebnissen des ersten Versuches. Die Inkubationszeit ist die gleiche, das Ansteigen des Säuregrades geschieht in dem gleichen Tempo, nur ist es etwas geringer, als Endresultat ist der Säuregrad nach 25 Stunden wieder der gleiche, nur für die Kultur a erwies sich dieser merklich niedriger, als in dem ersten Versuche. Warum es so war, läßt sich schwer sagen, bemerkt sei nur, daß bei dem zweiten Versuche der Thermostat in den ersten 3 Beobachtungsstunden nicht 30°, sondern unter 28° und 29° zeigte und erst danach auf 30° stehen blieb, bei dem ersten Versuche stand der Thermostat die ganze Zeit auf 30°. Was die neuen Kulturen b und c^1 anlangt, so stehen sie an Säurebildung den entsprechenden Kulturen a und c sehr nahe, d. h. das gemeinsame Vermögen, die Milch schleimig zu machen oder nicht, nähert die entsprechenden Kulturen zueinander auch hinsichtlich ihrer Energie der Milchsäurebildung und zieht andererseits eine merkliche Grenze in bezug auf Energie der Milchsäurebildung zwischen den schleimig und nicht schleimig machenden Kulturen. Ferner geht aus diesen Ergebnissen hervor, daß täglich oder wöchentlich während einer langen Zeitperiode ungeimpfte Kulturen im Endresultat die gleiche Energie der Milchsäurebildung aufweisen.

Wenn wir nun die kombinierte Einwirkung der Kulturen betrachten, so sehen wir nichts Neues von dieser Kombination; der ganze Steigerungsprozeß des Säuregrades, ganz gleich ob mit dem Bac. lactis acidi die schleimig oder nicht schleimig machende Rasse kombiniert war, verläuft ebenso wie bei Bac. lactis acidi allein. Nach 25 Stunden zeigten c + Bac. lactis acidi einen bloß um 11° höheren Säuregrad, als der Bac. lactis acidi allein. Diese Beobachtung widerspricht der bereits bekannten Tatsache, daß bei gemeinsamer Vegetation dieser Mikroben in Milch die Energie der Säurebildung in den ersten Stunden auffallend steigt gegenüber dem, was diese Mikroben gesondert bewirken, so auffallend, daß die Milchgerinnung bei gemeinsamer Vegetation gewöhnlich nach 5—6 Stunden eintritt; deswegen erschien es nun interessant, das mikroskopische Bild der Sauermilch zu durchmustern, in der Voraussetzung, daß der Streptobac. Lebenis vielleicht aus irgend einem Grunde in der Milch gar nicht zur Entwickelung kam, doch das mikroskopische Bild zeigte im Gegenteil, daß, neben starker Entwickelung des Bac. lactis acidi, auch eine starke Vegetation sowohl der Kultur a als auch c, der letzteren insbesondere existierte. Auf diese Weise blieb, dank unbekannten Umständen, ungeachtet der gleichzeitigen Entwickelung beider Mikroben, die Energie der Säurebildung die gleiche, wie bei der Kultur des Bac. lactis acidi allein. Uebrigens muß ausgesprochen werden, daß man auf Grund zahlreicher Beobachtungen, welche ich an dieser interessanten gemeinsamen Tätigkeit beider Mikroben bei Zubereitung von Sauermilch nach Metschnikoff zu machen Gelegenheit

hatte, den Eindruck gewinnt, daß diese Symbiose durchaus nicht immer einen bestimmten Effekt hat; es gibt viele äußere und häufig nicht zu erkennende Umstände, bei denen der Effekt des Zunehmens des Säuregrades und der Zeitpunkt der Milchgerinnung bedeutenden Schwankungen unterliegen. Vor allem spielt hier eine Rolle die Energie der Milchsäurebildung bei den betreffenden, in Milch geimpften Kulturen und besonders bei der Kultur des Bac. lactis acidi, sodann das quantitative Verhätnis zwischen beiden Mikroben im Impfmaterial, die Temperatur der Milchgerinnung, Qualität und Quantität der Milch usw. Alle diese Faktoren üben in verschiedener Kombination auf beide Mikroben durchaus keine gleiche Wirkung aus, das ist der Grund, weswegen jeder neue Faktor, jede neue Kombination derselben das frühere gegenseitige Verhältnis der Mikroben aufhebt und schließlich eine andere Steigerungskurve des Säuregrades der Milch, eine andere Gerinnungsfrist usw. resultiert. Mit einem Wort, hier existiert offenbar ein sehr kompliziertes und feines gegenseitiges Verhältnis zwischen den Mikroben, ein konstantes — bei gewisser bestimmter Proportionalität zwischen vielen Faktoren und ein schnell aus diesem Gleichgewicht herauskommendes, sobald diese Proportionalität nicht nur beim Wechsel einiger der oben genannten Faktoren auf einmal, sondern sogar beim Wechsel irgend einer von ihnen sich ändert. Speziell für den oben genannten Fall, wo die gemeinsame Tätigkeit der Kulturen sich in nichts von der Wirkung einer Kultur des Bac. acidi lactis unterschied, kann ich hinzufügen, daß ich bereits einige Beispiele hatte, wo bei unter gleichen Bedingungen, nur um einige Monate später angestellten Versuchen, wo ebenfalls je eine Platinöse Impfmaterial auf 100 ccm Milch genommen wurde, der Koagulationsprozeß nach 6 Stunden ein Ende nahm, in anderen Fällen nach 7, 8, 10 Stunden usw. Ich habe derzeit die Säurebildung nicht beobachtet, weil ich ganz andere Aufgaben verfolgte, aber es ist klar, daß, wenn die Milch nach 6 Stunden koaguliert war, der Säuregrad zu der Zeit 70—80° und jedenfalls nicht unter 60° betrug. Ich will noch hinzufügen, daß bei richtiger Auswahl sämtlicher für die gemeinsame Tätigkeit dieser Mikroben günstiger Faktoren der Säuerungs- und Gerinnungsprozeß der Milch, ganz gleich ob die schleimig oder nicht schleimig machende Rasse beteiligt ist, ganz gleich verläuft, d. h. die Milch gerinnt in 5—6 Stunden, der Säuregrad pflegt zu dieser Zeit ungefähr der gleiche zu sein, irgend welche Geschmacksunterschiede sind nicht vorhanden.

Nun frägt es sich: Worin liegt das Geheimnis dieses wunderbaren Zunehmens der Säurebildungsenergie in den ersten Stunden bei gemeinsamer Vegetation beider Mikroben, wenn jeder von ihnen gesondert in demselben Zeitraum gar keine Spuren von Säurebildung offenbart. Experimentelle Daten zur Erklärung dieser Erscheinung bei der Symbiose von Strept. Lebenis und Bac. lactis acidi gibt es einstweilen nicht, doch angesichts der Angaben, z. B. von Kayser, Marschal, Jensen, über den Einfluß der peptonisierenden Bakterien überhaupt, infolge ihrer Peptonbildung in Milch, auf die Steigerung der Säurebildungsenergie in der nachfolgenden, von Milchsäuremikroben verursachten Milchsäuregärung, kann man mit großer Wahrscheinlichkeit der nämlichen Ursache auch den Effekt in dem erörterten Fall zuschreiben. Strept. Lebenis peptonisiert, wie bekannt, in gewissem Maße (obgleich Rist und Khoury bei ihrem Mikroorganismus diese Eigenschaft nicht konstatiert haben) das Kasein der Milch, und wenn das der Fall ist, so ist folglich jener für das Zunehmen der Energie der Milchsäurebildung

günstige Faktor vorhanden, von dem die obengenannten Autoren sprechen. Unter anderem kann man, von dieser Voraussetzung ausgehend, annehmen, daß unter den oben angegebenen Faktoren, welche auf das gegenseitige Verhältnis beider Mikroben bei ihrer Vegetation in Milch einen Einfluß haben, das peptonisierende Vermögen des Strept. Lebenis nicht die letzte Rolle spielt. Wir haben oben darauf hingewiesen, daß Kulturen dieser Mikroben unter dem Einfluß mancher Ursachen ziemlich merklich den Grad ihrer peptonisierenden Tätigkeit ändern, ihn bald steigernd, bald erniedrigend; das ersieht man teilweise auch aus den Angaben Bertrands und Weisweillers, welche einen relativ schwachen Auflösungsprozeß des Kaseins der Milch durch die Reinkultur des Strept. Lebenis konstatieren, während andererseits die Fouardschen Analysen der „Lactobacilline"-Sauermilch auf eine sehr starke Auflösung des Kaseins hinweisen. Es ist leicht möglich, daß unter dem Einfluß dieser quantitativ wechselnden, peptonisierenden Tätigkeit des Mikroben entsprechend auch die Energie der Säurebildung bei den gemeinsam in der Milch vegetierenden Bakterien wechselt, und auf diese Weise, wie oben ausgeführt, die Erreichung des Endzieles ihrer gemeinsamen Tätigkeit Schwankungen unterliegt, indem die Säurebildung und Gerinnungsfrist der Milch bald hingezogen, bald beschleunigt wird. Jedenfalls ist diese zweifellos interessante und feine Wechselbeziehung zwischen den Mikroben noch wenig geklärt und bedarf eines weiteren Studiums.

Zu unserem zweiten Versuche zurückkehrend, müssen wir noch kurz über das Resultat der 7-tägigen Vegetation der Mikroben in Milch berichten. Gleich wie im ersten Versuche, erwies sich schließlich als am meisten energische die Kultur a, welche einen Säuregrad von 290° erzeugte, ihr folgt die Kultur b mit einem bedeutend niedrigeren Säuregrad von 175°, c^1 mit 161° und den niedrigsten Säuregrad ergab, wie auch im ersten Versuche, der Bac. lactis acidi. Vergleicht man die Ergebnisse dieser Versuche, um das Zunehmen des Säuregrades in dem Zeitraum zwischen 3 und 7 Tagen zu verfolgen, so ist es nicht schwer, einzusehen, daß bei dem Strept. Lebenis die Säurebildung während dieser Zeit bereits stark vermindert ist, bei der Rasse a ist der Säuregrad in sämtlichen 4 Tagen im ganzen um 53° gestiegen und bei c noch weniger, bloß um 11°, bei dem Bac. lactis acidi hört der Gärungsprozeß zu dieser Zeit ganz auf. Was die Kultur c^1 anlangt, so unterscheidet sie sich auch nach 7 Tagen an Energie der Säurebildung wenig von c.

Aus diesen Angaben ist es klar sichtbar, wie stark sich in Energie der Säurebildung und in der Steigerungskurve des Säuregrades der Bac. lactis acidi vom Strept. Lebenis unterscheidet. Ersterer beendet den ganzen Gärungsprozeß ungefähr nach 24 Stunden, falls später, doch wahrscheinlich nicht weiter als in den nächsten 24 Stunden, der Säuregrad noch zunimmt, so jedenfalls in sehr geringem Maße, schließlich ist der Höhepunkt seiner Gärungstätigkeit 9 g Milchsäure pro Liter Milch; die Inkubationszeit ist im ganzen 6 Stunden, wonach eine konsequente Steigerung des Säuregrades folgt. Merklich anders verläuft der Prozeß bei der schleimig machenden Rasse des Strept. Lebenis. Hier war der Gärungsprozeß während sämtlicher 7 Beobachtungstage permanent und ergab als Endresultat 26 g Milchsäure, d. h. beinahe das Dreifache im Verhältnis zu dem Bac. lactis acidi; die Inkubationsperiode zieht sich hier anstatt 6 Stunden bis zu 15 Stunden hin, wonach im Verlaufe dreier Tage der Säuregrad rapid zunimmt, um dann merklich schwächer zu steigen. In der Hauptsache kommt der Unterschied darauf heraus, daß die schleimig machende Rasse des Strept. Lebenis eine längere In-

kubationsperiode besitzt, als der Bac. lactis acidi, den Gärungsprozeß während eines bedeutend längeren Zeitraumes fortsetzt und schließlich eine bedeutend größere Menge Milchsäure produziert. Was die nicht schleimig machende Rasse c anlangt, so ist sie in bezug auf Inkubationsperiode und Dauer des Gärungsprozesses mit der Rasse b identisch, unterscheidet sich aber deutlich von dieser darin, daß sie in 7 Tagen merklich weniger Milchsäure produziert, und zwar etwa 16 g pro Liter, indem sie somit in dieser Hinsicht die Mitte zwischen Bac. lactis acidi und der schleimig machenden Rasse des Strept. Lebenis einnimmt.

Unter anderem wurden die schleimig und nicht schleimig machende Rasse des Strept. Lebenis noch auf Pathogenität untersucht, zu welchem Zweck je $1^1/_2$ ccm Bouillonkultur Meerschweinchen in die Peritonealhöhle eingeimpft wurden. Das Resultat war für beide Rassen ein ganz gleiches — es wurden weder allgemeine, noch lokale krankhafte Erscheinungen beobachtet.

In diesem Befunde liegt wieder eine Bestätigung der früher ausgesprochenen Ansicht, daß die schleimig und nicht schleimig machende Rasse des Strept. Lebenis, welche uns zur Verfügung standen, nichts anderes sind als Rassen einer und derselben Species; die morphologischen Unterschiede zwischen ihnen sind minimal, in physiologischer Hinsicht besteht der ganze Unterschied bloß in der Energie der Säurebildung. Deswegen möchte ich den Vorschlag machen, diese Rassen des sogenannten Bac. bulgaricus — die nicht schleimig machende als Strept. Lebenis α, die schleimig machende als Strept. Lebenis β zu bezeichnen.

Zum Schluß entsteht unwillkürlich wieder die Frage, mit welcher Rasse Bertrand und Weisweiller, sowie auch Cohendy gearbeitet haben. Wir haben bereits früher auf Grund dessen, daß diese Autoren in ihren Arbeiten nirgends von einem so charakteristischen Merkmal, wie das Schleimigwerden der Milch, reden, die Ansicht ausgesprochen, daß diese Autoren mit der nicht schleimig machenden Rasse gearbeitet haben; doch jetzt, im Besitz der Befunde über die Energie der Säurebildung beider Rassen, müssen wir das Gegenteil behaupten. Die genannten Autoren charakterisieren die Kulturen, mit denen sie gearbeitet haben, als sehr energisch säurebildende, 25—30 g Milchsäure pro Liter Milch, d. h. gerade das, was bei mir die schleimig machende Rasse aufweist. Angesichts dieser Widersprüche wäre es noch interessanter, zu wissen, mit welcher Rasse Rist und Khoury gearbeitet haben.

Nun will ich mich etwas mit meinen bakteriologischen Analysen des von der Firma „Le Ferment“ unter dem Namen „Lactobacilline“ angefertigten Präparates befassen. Das erste Präparat, welches ich bereits im Jahre 1906 gelegentlich analysierte, war eine trockene, pulverförmige „Lactobacilline“-Kultur, wie bekannt, von der Pariser Firma „Le Ferment“ angefertigt. Diese Kultur wird sowohl zum unmittelbaren innerlichen Gebrauch, als auch zur Zubereitung von Sauermilch empfohlen. Ich zog zur Prüfung derselben den letzteren Weg vor, zu welchem Zweck ich Milch mit dieser Kultur fermentierte, mich genau an die beiliegenden Vorschriften haltend, doch das Resultat war ein sehr trostloses: Anstatt 5—8 Stunden, in welchem Zeitraum die Sauermilch fertig sein soll, war bei mir die Milch sogar in 3 Tagen nicht koaguliert, anstatt dessen trat Peptonisierung der Milch mit deutlich alkalischer Reaktion ein. Die bakteriologische Analyse der Trockenkultur hat das so sonderbare Resultat vollkommen erklärt, die Kultur erwies sich als tot, sie enthielt nicht einen lebendigen Keim, weder einen bulgarischen

Bacillus noch irgend ein anderes Bakterium, Aussaaten zeigten bloß das Vorhandensein einer geringen Anzahl von Penicillium-Schimmelpilzen. Gleichzeitig habe ich dann das flüssige „Lactobacilline“-Ferment aus der Petersburger Filiale der Firma „Le Ferment“ untersucht; die mit diesem Ferment behandelte Milch, wiederum unter strenger Beobachtung sämtlicher Vorschriften, gerann erst nach 15 Stunden, anstatt der in den Vorschriften angegebenen 5—8 Stunden. Das mikroskopische Bild des gekauften Ferments war weit von dem entfernt, was das „Lactobacilline“ angeblich enthalten soll; in den beigegebenen Vorschriften führt die Firma „Le Ferment“ zwei photographische Aufnahmen des mikroskopischen Bildes einer „Lactobacilline“-Milchkultur und spontan geronnener Milch vor. Bei unserer Prüfung zeigte das „Lactobacilline“ gerade das Gegenteil von dieser Illustration, und zwar das unerwünschte Bild spontan geronnener Milch, in demselben waren keine Spuren irgend welcher Stäbchen, folglich auch nicht des Bac. bulgaricus, aber dafür gab es in zureichender Menge eine unerwünschte Verunreinigung in Gestalt von Oidium lactis und einer geringen Menge Hefepilze; das nämliche zeigte natürlich auch die mit diesem Präparat zubereitete Sauermilch. Eine exakte bakteriologische Analyse des Präparates hat das mikroskopische Bild desselben vollständig bestätigt; es enthielt nicht einen Bac. bulgaricus, sondern in kolossaler Menge, wie es in jeder Sauermilch der Fall ist, den gewöhnlichen Erreger der Milchsäuregärung, Bac. lactis acidi, und daneben in bedeutender Anzahl Keime von Oidium lactis und Hefen.

Kein besseres Resultat erzielte die Analyse einer neuen, aus der bekannten Moskauer Ferreinschen Apotheke erworbenen flüssigen „Lactobacillin“-Portion, etwa 2 Monate nach der ersten Untersuchung. Mit diesem „Lactobacilline“ zubereitete Milch gerann noch später, als bei der ersten Untersuchung, und zwar nach $24^1/_2$ Stunden; das mikroskopische Bild des gekauften Präparates war wiederum im höchsten Grade unbefriedigend, gleichwie das Bild der damit zubereiteten Sauermilch. Die bakteriologische Analyse hat das Ausgesprochene nur bestätigt, das Präparat enthielt den gewöhnlichen Bewohner der Sauermilch, Bac. lactis acidi, und eine bedeutende Menge Hefen, der Bac. bulgaricus war gar nicht vorhanden. Nach einigen Tagen wurde noch eine Portion des dann gekauften flüssigen Fermentes untersucht, das Resultat war natürlich ganz analog.

In diesem Jahre untersuchte ich das „Lactobacilline“ von neuem, und kaufte zu diesem Zwecke am 7. Februar in der Moskauer Filiale der Firma „Le Ferment“ das flüssige Ferment, die pulverisierte Trockenkultur und die in Tablettenform. Mit dem flüssigen Ferment zubereitete Milch war nach 12 Stunden noch flüssig, sie gerann danach nachts, doch zu welcher Stunde, wurde nicht beobachtet; somit gerann die Milch auch hier anstatt der angegebenen 5—8 Stunden, viel später. Im mikroskopischen Bilde zeigte die Sauermilch sehr viel B. lactis acidi und eine ziemlich bedeutende Anzahl Stäbchen; das Ferment selbst zeigte mikroskopisch ebenfalls viel B. lactis acidi und reichlich Stäbchen, unter denen in der Minderzahl dickere, kürzere und sich intensiv färbende und in der Mehrzahl feinere, längere und schwächer gefärbte. Auf diese Weise hätte man nach dem mikroskopischen Bilde das Vorhandensein des B. bulgaricus in den Fermenten, wenn auch in geringem Maße, vermuten können, doch die bakteriologische Analyse hat diese Vermutung zu nichte gemacht; in dem Ferment sowohl, wie auch in der damit zubereiteten Sauermilch waren die im mikroskopischen Bilde sicht-

baren Stäbchen nichts anderes als eine Verunreinigung. Noch schlimmer war das Ergebnis für die Trockenkulturen. Milch, zubereitet mit trockenem, pulverisierten Lactobacilline, von dem unter anderem zur Sicherheit des Erfolges das Doppelte von dem vorgeschriebenen genommen wurde, gerann später, als 13 Stunden nach der Fermentierung, nachts, unbekannt um welche Stunde; am nächsten Tage morgens war es am Aussehen des Gerinnsels und am Geruch zu sehen, daß in der Milch gar keine Milchsäuregärung stattgefunden hat und daß die Gerinnung von dem Labferment der Verunreinigungsbakterien verursacht worden ist; anstatt 70—80° normalen Säuregrades nach Terner, zeigte die zubereitete Sauermilch bloß 23°. Die bakteriologische Analyse der Kultur hat dieses Ergebnis vollkommen aufgeklärt; eine Tabaksdose, geimpft mit einer Platinöse Trockenkultur, gab 21 Kolonieen, davon gehörten 14 dem Oidium lactis, die übrigen 2 Arten peptonisierenden Stäbchen an; eine Tabaksdose, mit 2 Platinösen geimpft, ergab 44 Kolonieen, davon 34 Oidium, 1 Hefen, die übrigen gehörten unbekannten Stäbchen an; der B. bulgaricus oder irgendwelche andere Milchsäurebakterien waren in der Kultur gar nicht vorhanden. Was die Tabletten anbelangt, so erwies sich ihr Inhalt fast steril; bei Impfung mit einer Platinöse zeigten sich auf der Tabaksdose 3, und mit 2 Platinösen 2 Kolonieen ganz anderer Bakterien, der B. bulgaricus fehlte ganz.

Aus den angeführten Daten ist es nicht schwer, den Schluß zu ziehen, daß das in den Handel gebrachte neue Heilmittel bei weitem nicht immer der elementarsten Anforderung entspricht, welche man an derartige Präparate stellt, daß dieselben eben diejenigen heilkräftigen Ingredienzien, welche vom Rezept und der Vorschrift des Erfinders des Präparates selbst vorgeschrieben werden, enthalten sollen, denn nur diese Ingredienzien verleihen dem Präparat das Existenzrecht. Freilich kann man die Vermutung aussprechen, daß in den betreffenden Fällen ich es zufällig mit mißlungenen Präparaten zu tun hatte, doch erstens darf bei Heilmitteln so etwas nicht vorkommen, und zweitens dürfte solch eine Zufälligkeit für sämtliche sieben Analysen des zu verschiedener Zeit und in verschiedenen Formen gekauften Präparates eine gewagte Vermutung sein. Uebrigens bin ich nicht der einzige, der ein derartig ungünstiges Resultat bei Untersuchung des „Lactobacilline" erhalten hat; dasselbe Ergebnis konstatierten in der russischen Spezialliteratur Bogoljubowa (Ueber Milchsäurebakterien und das käufliche Lactobacilline. Russki Wratsch. 1907. No. 43) und in der westeuropäischen Literatur die obengenannten Autoren Luerssen und Kühn. Freilich bringt Bogoljubowa wenig Beweismaterial in dem Teil ihrer Arbeit, wo sie die Konstatierung des B. bulgaricus in 10 von ihr untersuchten Portionen flüssigen „Lactobacilline"-Fermentes behandelt; hier beruhen die Schlußfolgerungen der Verf. auf mikroskopischen Beobachtungen und auf dem Ergebnis von Aussaaten auf Fleischpeptonmedien; doch die mikroskopische Beobachtung an und für sich entscheidet natürlich nicht immer die Frage, ebensowenig wie Aussaaten auf Fleischpeptonmedien, auf denen bekanntermaßen der B. bulgaricus gar nicht oder sehr dürftig wächst. Aber dort, wo die Verf. auf diesem Wege eine Verunreinigung der Fermente durch Oidium lactis, Hefen, Kokken usw. konstatiert, finden wir eine Bestätigung der Ergebnisse unserer Analysen. Was die Befunde Luerssens und Kühns anbelangt, so konstatieren auch diese in den von ihnen untersuchten pulverisierten Kulturen und Tabletten eine Verunreinigung, und in letzteren konstatieren sie außerdem das Fehlen des B. bulgaricus, denn sie sprechen von 2 Arten

Heubacillen und erwähnen nichts über das Vorhandensein des B. bulgaricus.

Ich will mich hier nicht mit Hypothesen über die Ursachen der so unerwünschten Erscheinung befassen, kann aber nicht umhin, auf einen Umstand hinzuweisen, welcher die Qualität der käuflichen „Lactobacilline"-Reinkulturen beeinträchtigen muß. Die Laboratorien, welche die Kulturen zubereiten, berücksichtigen nicht ihre Dauerhaftigkeit, d. h. die Fähigkeit einer jeden Kultur, ihre Lebenstätigkeit bloß innerhalb einer streng bestimmten Zeit aufrecht zu erhalten, sie vergessen dabei, daß die Lebensfähigkeit der Bakterienkulturen, ganz gleich, ob flüssige oder Trockenkultur, eine gewisse Zeitgrenze hat, nach Erreichung derer die Bakterienkeime allmählich ihre Lebensfähigkeit einbüßen und schließlich ganz zugrunde gehen. Hier wiederholt sich derselbe Fehler, welcher früher und teilweise auch jetzt bei der Zubereitung von Reinkulturen für die Butterproduktion zugelassen wird; die diese Kulturen anfertigenden Laboratorien halten es nicht für nötig, anzugeben, bis zu welcher Frist die betreffenden Kulturen lebensfähig sind, und unterlassen es darum, ihre Produkte mit dem Datum der Zubereitung zu stempeln. Allerdings gibt die Firma „Le Ferment" für das flüssige Ferment die Dauerhaftigkeit von einem Monat bei Aufbewahrung auf Eis und für die Trockenkultur „1 Jahr und mehr" an, wie es in der Vorschrift heißt. Doch frägt es sich, wozu diese Angabe, sobald auf dem Präparat nicht die Zubereitungszeit angegeben ist. Man kann doch in der Tat nicht diese Frist vom Kauftage des Präparates rechnen. Man darf nicht vergessen, daß das eine oder andere Lactobacillinepräparat beim Versand desselben aus dem zentralen Laboratorium nach verschiedenen Städten und sogar verschiedenen Staaten, wie das für die in Paris zubereiteten Trockenpräparate des „Lactobacilline" der Fall ist, sehr verschieden lange auf dem Wege sein wird, je nach der Entfernung des Bestimmungsortes, eine mehr oder weniger geraume Zeit beim Vermittler liegen wird, so daß es schließlich natürlich ist, daß ein derartiges Präparat in die Hand des Konsumenten entweder geschwächt oder einfach tot gelangen kann, d. h. jedenfalls ganz untauglich. Insbesondere bezieht sich das auf das flüssige Ferment, dessen Dauerhaftigkeit sogar nach Berechnung der Firma „Le Ferment" im ganzen einen Monat beträgt, schon abgesehen davon, daß die erforderliche Bedingung, Aufbewahrung im Kühlen, beim Versand nicht erfüllbar ist; hier können die Kulturen im Gegenteil den größten Temperaturschwankungen ausgesetzt seien, in Abhängigkeit von der Jahreszeit, dem Versand, der Postordnung usw. Andererseits läßt sich nicht verkennen, daß an und für sich die von der Firma für die Dauerhaftigkeit der Präparate angegebenen Termine sehr heraufgeschraubt sind. Ein Monat ist für eine flüssige, lebensfähige Kultur eine zu große Frist; innerhalb dieser Zeit wird die Lebenstätigkeit des B. bulgaricus und des B. lactis acidi, soweit uns ihre Natur bereits bekannt ist, zweifellos schwächer, und falls nicht günstige Temperaturbedingungen, d. h. Aufbewahrung der Kulturen bei niedriger Temperatur, eingehalten werden, so können die Kulturen auch endgültig absterben. Für das Trockenpräparat, wo die Bakterienkeime sich im Rohzustande befinden, ist die Konservierungsfrist natürlich länger und die Temperaturverhältnisse sind hier nicht wichtig, doch auch hier ist die Frist von einem Jahre und darüber, wie von der Firma angegeben wird, wenigstens für einen Ingredienten des „Lactobacilline", und zwar den B. lactis acidi, ohne Zweifel übermäßig. Nach meinen Versuchsdaten ist diese Frist für den B. lactis acidi durchschnittlich nicht mehr als 4—6 Monate,

danach folgt eine Schwächung der Kulturen; für den B. bulgaricus habe ich keine Daten, sondern kann nur sagen, daß an den von mir angefertigten Trockenkulturen dieses Mikroben zu sehen war, daß derselbe nach 3 Monaten noch am Leben war, doch wie groß zu dieser Zeit seine Säurebildungsenergie war, wurde von mir nicht untersucht. Sogar zugegeben, daß der B. bulgaricus wirklich seine Lebenstätigkeit ein Jahr und darüber behält, so ist auch dann das trockene, pulverförmige „Lactobacilline“ nach solch einer Frist, wie ein Jahr, zur Zubereitung von Sauermilch untauglich, denn der andere Ingredient des Präparates, der B. lactis acidi, wird zu der Zeit teils geschwächt, teils tot sein, d. h. die ursprünglich angeordnete Proportion zwischen den Mikroben im Präparate wird zu dieser Zeit scharf verändert sein, und folglich kann auch nicht diejenige sozusagen normale Sauermilch erzielt werden, von deren Zubereitung in der Vorschrift die Rede ist.

Mit einem Wort: Auf Grund sämtlicher hier angeführten Daten und Erwägungen möchte ich es aussprechen, daß eine so ernste Sache, wie es die Zubereitung eines neuen Heilmittels ist, durchaus nicht richtig organisiert ist, und darum ist es sowohl im Interesse der Patienten, als auch der Heilmethode selbst, damit nicht endgültig der Sinn derselben vertuscht und verdreht wird, notwendig, daß die das „Lactobacilline“ zubereitenden Laboratorien mehr dafür Sorge tragen, daß die Sache auf wissenschaftlicher Grundlage organisiert werde. Andererseits waren die Laboratorien überhaupt zu übereilt, indem sie das neue Präparat in verschiedener Form in den Handel brachten, ohne vorher mit voller Exaktheit die Eigenschaften desselben untersucht zu haben. Es ist nicht einerlei, ob man „Lactobacilline“-Tabletten mit wirklich lebendigen Kulturen braucht, oder solche mit abgestorbenen; ebenso ist es nicht einerlei, ob man Sauermilch mit vollständig lebensfähigem, flüssigem oder trockenem Ferment, in welchem die nützlichen Mikroben in richtiger Proportion enthalten sind, zubereitet, oder ob man Sauermilch mit dem nämlichen flüssigen oder trockenen Ferment zubereitet, in welchem gar kein B. bulgaricus vorhanden ist, oder die Proportion zwischen den Kulturen infolgedessen, daß dieselben nicht frisch, durch anderweitige Mikroorganismen verunreinigt sind usw., bedeutend verändert ist. Dabei hat aber der Arzt, welcher dieses Mittel verwendet, nicht die Möglichkeit, jedesmal den Gehalt des Heilmittels zu analysieren; er registriert bloß die Resultate der Verwendung dieses Heilmittels und stellt alles dabei auf Rechnung eines spezifischen Agens, und dieses ist in der Tat dort öfters gar nicht vorhanden oder ist geschwächt, verunreinigt usw. Es frägt sich nur, ob unter solchen Bedingungen eine klare und richtige Vorstellung von dem Einfluß eines solchen Heilmittels auf den menschlichen Organismus erzielt werden kann.

Die Haltbarkeit der Butter in Kalthäusern.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium der Versuchsstation East Lansing, Michigan].

Von **W. S. Sayer, Otto Rahn** und **Bell Farrand.**

Die folgenden Untersuchungen sollten feststellen, welche Zersetzungen in der Butter vorgehen, wenn sie nach der in Amerika üblichen Weise unter dem Gefrierpunkt — gewöhnlich bei —5° bis —10° C, seltener bei —20° — aufbewahrt wird, und was die Ursache dieser Zersetzungen sei. Diese erste Publikation gibt einen Ueberblick über die Untersuchungen einer

größeren Anzahl von Butterproben, welche zur Orientierung auf diesem noch unbearbeiteten Gebiet dienen sollten. Nach dieser vorläufigen Klärung ist die Bearbeitung von Einzelproblemen leichter möglich und einzelne derselben sind bereits in Angriff genommen. Die Resultate dieser ersten Untersuchung können hier aus Mangel an Raum nur im Auszug wiedergegeben werden. Die Arbeit ist ausführlich als Technical Bulletin No. 1 of the Michigan State Agricultural College, Bacteriological Laboratory, East Lansing, Mich., erschienen und wird Interessenten auf Ersuchen zugesandt.

Die Arbeit wurde in großem Umfange aufgenommen und durchweg den praktischen Verhältnissen entsprechend durchgeführt. Von 16 verschiedenen Molkereien wurde im Juni Butter gekauft, 7 Faß zu je 30 kg, die Butter war am gleichen Tage vom gleichen Rahm, womöglich im selben Butterfaß hergestellt, so daß die 7 Teilproben als vollkommen gleich betrachtet werden können. Die Verhältnisse, unter denen die Butter gewonnen war, sowie die Verwendung von Reinkulturen, Säureweckern, der Säuregehalt und die Temperatur des Rahmes beim Buttern, die Wasserversorgung und Abwasserbeseitigung, die Gebäude und die Person des Buttermachers wurden von einem der Versuchsstations-Bakteriologen an Ort und Stelle geprüft.

Je 2 Faß von jeder Probe wurden nach 3 verschiedenen Kalthäusern geschickt, das 7. Faß kam nach der Versuchsstation, wurde dort von einem Butterfachmann auf Handelswert geprüft und dann zur chemischen und bakteriologischen Untersuchung benutzt. Nach dieser Probenahme wurde dies letzte Faß im Obstkalthaus der Versuchsstation aufbewahrt.

Außer diesen Proben wurde noch eine Serie von 7 Faß „renovierter Butter“ gekauft; diese Butter wird nach einem geheim gehaltenen Verfahren aus ranziger Butter hergestellt, wobei es sich im wesentlichen um eine Reinigung des alten Fettes, dessen Emulsion in frischer Milch und die Verbutterung dieser Emulsion handelt. Ferner wurden drei Proben in der Versuchsmolkerei aus dem gleichen Rahm hergestellt. Probe I war pasteurisiert und süß gebuttert, Probe III wurde ohne Pasteurisierung direkt gebuttert, Probe V wurde pasteurisiert und dann mit Reinkultur gereift; diese Butter wurde schon im Februar hergestellt und war also 3 Monate älter als die andere Butter. Es waren nur 2 Faß von jeder Probe hergestellt worden, von denen das eine in der Versuchsstation, das andere im Kalthaus b aufbewahrt wurde. Die renovierte Butter hat die Nummer IX. Die andern 16 normalen Proben sind mit II, IV—XXII bezeichnet.

Die Kalthäuser waren verschiedener Art. Das kleine Obstkalthaus a der Versuchsstation ist stets über dem Gefrierpunkt, etwa $+4$ bis $+5^0$ C gehalten. Die anderen drei Kalthäuser sind große Werke; zwei davon kühlen mit Salzlösung, das modernste, c, mit kalter Luft. Die Temperatur betrug in b etwa -7^0 C, in c -10^0 C, in d -6^0 C. Die Butterfässer derselben Probe in verschiedenen Kalthäusern wurden mit kleinen lateinischen Buchstaben unterschieden: a ist das Versuchsstationskalthaus, a_1 ist frische Butter, a_2 ist dasselbe Faß bei der Untersuchung im November, a_3 dasselbe Faß im Februar. In den anderen Lagerhäusern hatten wir je zwei Fässer, eines für November und eines für Februar; diese sind mit b, c, d, resp. e, f, g bezeichnet. Die 9 Proben in 7 Fässern haben also folgende Verteilung:

frisch		a		
November	a_2	b	c	d
Februar	a_3	e	f	g

Der Plan der Untersuchung war der, die Butter frisch sowie nach 5- und 8-monatlicher Lagerung zu untersuchen, und zwar chemisch, bakteriologisch und geschmacklich.

Die chemische Analyse.

Die chemische Analyse der frischen Butter erstreckte sich auf die Bestimmung von Wasser, Salz, Protein, Fett und freie Säure. Bei der gelagerten Butter wurde nur die freie Säure bestimmt, da die anderen Zahlen sich nicht wesentlich ändern konnten.

Tabelle I. Azidität.

Probe	frisch	November 1907				Februar 1908			
	a_1	a_2	b	c	d	a_3	e	f	g
I	—	7,9	3,2	—	—	9,4	3,3	—	—
III	—	18,1	5,2	—	—	19,2	5,6	—	—
V	—	7,8	4,3	—	—	8,7	4,6	—	—
IX	—	7,3	5,9	6,1	6,5	8,4	6,8	6,6	6,1
II	—	8,7	2,3	2,7	3,8	11,7	3,0	3,7	3,6
IV	—	4,5	2,2	2,3	2,3	5,9	2,4	2,4	2,4
VI	—	5,1	2,1	2,2	2,2	6,7	2,2	2,0	2,3
VIII	2,3	2,5	2,1	2,2	2,2	2,6	2,2	2,1	2,2
X	2,1	2,7	2,1	2,1	2,0	3,6	2,2	2,2	2,3
XI	3,1	7,7	4,9	4,5	4,8	8,6	5,6	4,8	5,6
XIII	2 8	6,7	3,1	3,1	3,0	7,8	3,8	3,2	3,4
XIV	2,0	2,2	1,9	1,9	1,9	2,5	2,0	1,9	2,0
XV	2,0	2,8	1,9	1,8	1,9	2,9	2,0	1,9	2,0
XVI	2,2	3,1	2,1	2,1	2,3	3,4	2,3	2,2	2,3
XVII	1,8	3,3	1,9	1,9	2,0	3,2	2,1	1,9	2,0
XVIII	2,1	3,2	2,3	2,2	2,3	3,5	2,4	2,3	2,3
XIX	1,5	4,1	16	16	16	3,9	16	15	18
XX	1,7	2,3	15	15	15	2,5	16	16	16
XXI	2,6	7,2	3,4	3,0	3,2	8,9	4,4	3,3	4,1
XXII	2,1	2,9	2,0	2,1	2,0	2,9	2,1	2,1	2,1

Die Analyse ergab eine geringe Zunahme der Azidität in allen Proben, die im Kalthaus a, also über dem Gefrierpunkt, gehalten waren. Von den 16 normalen Proben zeigten selbst nach 9 Monaten nur 4 eine Zunahme der freien Säure, die anderen 12 Proben ließen nicht die geringste Aenderung erkennen. Die 4 Proben mit freier Säure waren von schlechten Molkereien mit mangelhafter Sorgfalt hergestellt worden. Auch die renovierte Butter hatte eine starke Aziditätszunahme. Analysen auf flüchtige Säuren und Ester, die bei der Serie a_2 ohne Erfolg durchgeführt waren, wurden später als zwecklos aufgegeben. Da viele Proben ranzig waren, trotz der konstanten Säurezahl, müssen wir schließen, daß das Ranzigwerden der Kalthausbutter nicht notwendig mit einer hydrolytischen Fettspaltung verbunden ist.

Die Butterprüfung.

Bei der Butterprüfung wurden für allerfeinste Butter 100 Punkte gegeben. Die beste unserer Proben hatte frisch 96 Punkte, nur 3 Proben hatten nach 9-monatlicher Lagerung noch 91 Punkte, die meisten gingen wesentlich herunter, von den im Kalthaus a (über dem Gefrierpunkte) gelagerten Proben war die Mehrzahl nach 6 Monaten schon vollkommen verdorben.

Die Butter wurde im November und Februar von zwei Fachleuten geprüft; die Resultate wichen ziemlich stark voneinander ab, doch sind die Mittelwerte zwar nicht absolut, aber doch relativ gleich, da die Werte des einen Begutachters durchweg niedriger sind als die des anderen (siehe die Tabellen II und III).

Tabelle II. Butterprüfung I.

Probe	frisch Juni	November 1907			Februar 1908		
		b	c	d	e	f	g
I	92	90	—	—	88	—	—
III	91½	75	—	—	84	—	—
V	90	83	—	—	83	—	—
IX	83	85	85	82	82	84	87
II	96	83	85	80	86	85	85
IV	91	87	89	88	87	80	86
VI	87	88	90	87	87	86	85
VIII	93	83	86	80	82	82	86
X	92	90	88	85	84	88	85
XI	87	88	85	85	85	77	89
XIII	94	82	92	80	78	78	85
XIV	91	91	92	79	88	87	86
XV	96	85	89	84	82	85	84
XVI	93	83	84	78	84	83	87
XVII	89	89	89	83	87	86	87
XVIII	90	85	89	85	86	85	84
XIX	94	85	91	85	80	85	83
XX	94	78	83	81	84	84	84
XXI	85	85	83	78	79	75	75
XXII	87	80	87	84	83	85	85
Mittel	91,2	85,1	87,6	82,6	83,9	83,2	84,7

Tabelle III. Butterprüfung II.

Probe	November 1907			Februar 1908		
	b	c	d	e	f	g
II	90½	90	86½	89	87	87
IV	90	91	92	87	90	90
VI	93	88	90	88	91	90
VIII	87	86	88	85	89	86
X	91	91½	88	88	88	87
XI	87½	85	85	84	84	83
XIII	86	90½	88	85	88	87
XIV	89½	91½	86½	90	91	90
XV	92	92	88½	90	88	90
XVI	91	92	89	86	85	87
XVII	91	92½	90½	89	88	88
XIX	91½	92	88	85	88	89
XX	91	89	87	84	84	83
XXI	87	88	89	86	84	86
XXII	90½	91	91½	88	86	87
Mittel	89,9	90,0	88,5	87,0	87,4	87,3

Ein Einfluß des Wassergehalts auf die Haltbarkeit der Butter war nicht festzustellen, da der Wassergehalt zwischen den recht engen Grenzen 12,07 und 14,67 Proz. schwankte. Auch der Salzgehalt, dessen Extreme 1,06 und 3,78 Proz. waren, hatte keine deutliche Beziehung zur Güte und Haltbarkeit. Dies Resultat bleibt ungeändert, wenn man an Stelle des Salzgehaltes die Salzkonzentration im Wasser der Butter als Maßstab nimmt.

Einen deutlichen Einfluß hat dagegen der Gebrauch eines Säureweckers. Von den 16 normalen Butterserien waren 7 ohne Reinkulturen, 9 mit technischen Reinkulturen gesäuert worden. Die Bewertung gab folgendes Durchschnittsresultat: (Siehe Tabelle p. 26.)

Die Qualität des Rahmes kam nur bei der Prüfung II ein wenig zur Geltung. Es sei noch bemerkt, daß die Proben, welche eine Zunahme der freien Säuren zeigten, auch niedere Durchschnittszahlen bei der Be-

		a	b	c	d	e	f	g
I	mit Reinkultur	90	84	87	82	83	82	84
	ohne Reinkultur	92	86	88	83	85	85	86
II	mit Reinkultur	—	89	89	88	86	86	86
	ohne Reinkultur	—	91	90	89	87	88	88

gutachtung ergaben, daß jedoch zwei der höchstbewerteten Proben I e und V e, eine beträchtlich hohe Azidität hatten.

Bakteriologische Untersuchung.

Die bakteriologische Untersuchung wurde qualitativ und quantitativ durchgeführt. Die mit einem sterilisierten Probestecher entnommene Probe wurde nach Entfernung der obersten und untersten Schicht im sterilen Glasgefäß bei 35° geschmolzen und in üblicher Weise verdünnt. Die Platten wurden mit gewöhnlichem Agar angelegt, da Molkenagar, im Gegensatz zu früheren Untersuchungen in diesem Laboratorium, durchweg eine niedrigere Keimzahl zeigte. Nach 7 Tagen wurden die verschiedenen Kolonieentypen aller Verdünnungen einzeln gezählt und isoliert. Die von anaëroben Platten isolierten Organismen wuchsen sämtlich in Luft, so daß von weiteren Versuchen Abstand genommen wurde. Von den zuerst in Bouillon isolierten Kulturen wurden Gelatineplatten angelegt und von diesen auf Agar übertragen. Die ein- bis zweitägige Agarstrichkultur wurde zur morphologischen Untersuchung benutzt. Zur physiologischen Untersuchung wurden Bouillon-, Gelatine- und Lackmusmilchkulturen angelegt, auch wurde Säure- und Gasbildung in Dextrose, Laktose und Saccharose geprüft.

Die Identifizierung wurde nach Conn, Esten und Stocking: Classification of dairy bacteria (Report Storrs Agricultural Experiment Station, Connecticut 1906) ausgeführt. Dies war die einzige systematische Beschreibung von Bakterien, die uns zur Klassifizierung geeignet schien, da das „System der Bakterien“ von Migula und Chesters „Manual of determinative bacteriology“, namentlich nach der physiologischen Seite hin, oft außerordentlich unvollständig sind.

Der am häufigsten gefundene Spaltpilz ist Micrococcus lactis varians, nach Conn identisch mit Staphylococcus pyogenes aureus. Es ist ein mehr oder weniger langsam verflüssigender gelber Coccus, welcher in Dextrose und Laktose, manchmal auch in Saccharose, Säure bildet. Säurebildung und Gelatineverflüssigung schwanken sehr. Eine besondere orangefarbene Varietät mit starker Säurebildung, die sehr schnell auf künstlichem Nährboden abstirbt, ist als var. 0 bezeichnet. Zwischen Micrococcus lactis varians und Micrococcus lactis aureus, welcher sich von ersterem nur durch den Mangel der Gelatineverflüssigung unterscheidet, ist keine absolute Grenze zu ziehen. Micrococcus lactis albidus, vermutlich identisch mit Micrococcus acidi lactici Krueger, ist am besten als farblose Varietät des Micrococcus lactis varians gekennzeichnet. Conn, Esten und Stocking vermuten, daß diese drei Organismen zur gleichen Art gehören.

Von den nicht beweglichen Stäbchenformen war Bacterium lactis Connii die häufigste, ein nicht verflüssigendes, nicht Säure bildendes Bakterium, daß Milch alkalisch macht. Bacterium lactis lobatum ist goldgelb, verflüssigt langsam und peptonisiert Milch bei schwach saurer Reaktion zu einer kleisterartigen Masse. Bacterium lactis album koaguliert und peptonisiert Milch bei akalischer Reaktion, Bacterium lactis Gorinii macht die Milch gewöhnlich ohne Gerinnung alkalisch.

Nur zwei bewegliche Stäbchenformen sind mehrmals gefunden. Bacillus lactis cochleatus koaguliert Milch gewöhnlich bei alkalischer Reaktion und peptonisiert sie, während Bacillus lactis Pruchii sie nach der Gerinnung in eine gelbliche kleisterartige Flüssigkeit verwandelt.

Für die wilden Hefen, die in alter Butter in erheblicher Anzahl, oft bis zu mehreren Millionen, gefunden wurden, konnten wir kein passendes System finden. Wir machten zuerst eine Trennung zwischen schnell verflüssigenden und nicht verflüssigenden Hefen und teilten letztere in drei Gruppen, die kleine unregelmäßige Hefe, die runde Hefe und die Maltosehefen. Keine der von uns gefundenen Hefen zeigte auf Gipsblöcken Sporenbildung.

Die schnell verflüssigenden Hefen gehörten alle zu derselben Art. Die Gelatinekolonie ist mycelartig, verflüssigt sehr schnell und bildet eine trockene Kahmhaut. Dextrose wird nicht vergoren. Milch wird bei neutraler Reaktion in kurzer Zeit koaguliert und peptonisiert. Die Zellen sind elliptisch, 4×6 bis 5×6, seltener 6×10 μ groß, zwischen diesen liegen gewöhnlich kleinere runde Zellen mit 4 μ Durchmesser zerstreut. Mycelbildung wurde nie beobachtet.

Die kleine unregelmäßige Hefe ist nächst den Milchsäurebakterien der regelmäßigste Bewohner alter Butter. Die Zellen sind winzig, oft nur 2 μ im Durchmesser, gewöhnlich 3×4 μ, elliptisch oder oval. Aeltere Kulturen zeigen wurstförmige Zellen. Der Gelatinestich ist baumartig verzweigt. Milch wird meistens gar nicht verändert oder nach 3—4 Wochen schwach alkalisch, ohne sonstige sichtbare Veränderung. Gärung wurde weder in Dextrose noch in Maltose beobachtet.

Die runde Hefe, regelmäßige, einzelne, vollkommen runde Zellen mit 4—5 μ Durchmesser, vergärt ebenfalls keinen Zucker, wächst aber sehr üppig in Laktoseagar. Der Gelatinestich ist faden- oder perlförmig.

Die Maltosehefen gehören zu verschiedenen Arten. Einige Kulturen vergären Laktose in Milch, aber nicht in Laktosebouillon.

Der ziemlich regelmäßig vorkommende Pilz, den wir als Streptothrix bezeichnet haben, bildet harte, zähe Kolonieen, verflüssigt Gelatine, koaguliert und peptonisiert Milch. Wir halten ihn für identisch oder doch verwandt mit der von Reinmann und Jensen erwähnten Streptothrix-Art.

Außer diesen Organismen wurden Oidium, Penicillium und Aspergillus häufig gefunden.

Häufigkeit der einzelnen Arten.

Die in dieser Arbeit isolierten 879 Reinkulturen gehören zu 87 verschiedenen Arten; die meisten dieser Arten wurden nur ein- oder zweimal gefunden und müssen als zufällige Verunreinigungen der Butter angesehen werden. Wenn wir alle Organismen nach ihrer Häufigkeit ordnen, bekommen wir die folgende Uebersicht: (Siehe p. 30)

Diese Uebersicht zeigt, daß nur sehr wenige Arten häufig und fas gar keine regelmäßig gefunden wurden. Von den 168 untersuchten Proben enthielten 157 Milchsäurebakterien, 127 die kleine unregelmäßige Hefe und 84 Micrococcus lactis varians. Alle anderen Organismen wurden nur in etwa einem Viertel aller Proben, meistens noch seltener gefunden. Man kann hier also kaum von einer charakteristischen Flora sprechen. Hierdurch scheint sich die im Kalthaus aufbewahrte Butter wesentlich von der anderer Autoren zu unterscheiden.

Die Tabelle IV zeigt die Verteilung der häufigeren Organismen auf

Tabelle IV.

Verteilung der häufigeren Organismen auf die einzelnen Proben.

	I	III	V	IX	II	IV	VI	VIII	X	XI	XIII
Micrococcus lactis varians	b_2	a_1 b_3	a_1	b d f g	b d e f g	a_1 c f	—	—	a_1 e g	—	b c d e f g
„ „ varians 0	—	a_1	—	a_1	a_1	a_1	a_1	—	—	—	—
„ „ aureus	b_3	b_2	—	—	—	b	a_1 b c d e f g	—	—	—	—
„ „ albidus	a_3	—	a_1	a_1	d	b d	a_2 d	a_1	a_1 c	—	g
Bacterium lactis Connii	a_2 b_2	b_2 a_2 b_3	b_2 b_3	c	—	f g	a_1 b d	a_1	—	a_1 c	f
„ „ lobatum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ „ album	b_3	b_2	—	—	—	—	c a_3 e f	—	—	a_3	—
„ „ Gorinii	—	—	—	—	—	—	—	—	—	f	—
Bacillus lactis cochleatus	—	—	—	a_1 g	a_1 g	—	—	a_2 a_3 g	—	a_1 a_2 a_3 f	f g
„ „ Pruchii	—	—	a_2 a_3	—	—	—	—	—	a_1 c e f g	—	—
Kleine unregelmäßige Hefe	a_1 b_2 b_3	a_2 b_3	b_3	a_1 b c e f g	a_1 a_2 b c d a_3 e f g	a_1 a_3 b c d a_3 e f g	a_2 b c d e f g	a c e f g	a_2 b c d a_3 e f g	a_2 d e g	a_1 b c d a_3 e f g
Schnell verflüssigende Hefe	a_1	—	—	a_1 b c e f g	c	—	b	—	d f	c e f g	e f g
Rosa Hefe	a_2 b_2	—	—	a_1 b d a_3 g	—	c	c g	—	—	—	—
Runde Hefe	a_2	—	—	a_2 a_3	—	f	—	—	c	—	a_2 a_3 g
Streptothrix	a_2	a_2 b_2 b_3	a_2 b_3	a_1 a_2 b d a_3	c d e f g	f g	a_1 d e f g	a_1 d f	a_1 d	d	c f
Oidium lactis	a_1 b_2	a_1	a_1	a_1 a_2 b c d a_3 e g	a_2	b	—	—	a_3 g	a_1 b c d e f g	a_1 a_2 b c d a_3 e f g
Penicillium glaucum	a_2 b_2	a_2	a_2	a_1 d	a_1 b	a_1 a_2 c a_3	a_2 c	a_1 a_2 c a_3	d f g	a_3	a_1 d a_3
Aspergillus glaucus	a_2	a_3	a_2 b_2	a_1 d	a_1 a_2 b	d	c d a_3	c	—	a_1 a_2	—

	XIV	XV	XVI	XVII	XVIII	XIX	XX	XXI	XXII	Gesamtverteilung auf die Kalthäuser: frisch a_1	November a_2	November b	November c	November d	Februar a_3	Februar e	Februar f	Februar g	Summe
Micr. lactis varians	a_1 a_3 b c d a_3 e f g	a_1 c d a_3 e g	a_1 a_2 b c d a_3 e f g	a_1 b a_3 f g	a_1 a_2 b c d f g	c f	e f g	d e f g	f	9	3	8	7	8	4	9	12	11	71
„ „ varians 0	a_1	a_1	a_1	—	a_1 c	a_1	a_1 c	—	—	11	0	0	2	0	0	0	0	0	13
„ „ aureus	—	—	—	c e	b a_3 e	a_1 b d	b d a_3	a_1 b c	c d e	3	0	8	4	3	2	5	1	1	27
„ „ albidus	—	—	—	—	—	a_1 a_3	—	b c	—	5	1	2	1	3	2	1	0	1	16
Bact. lactis Connii	a_1 b c e	a_1 b	a_1 b c	a_1 c g	c g	b c	—	c d	b c d	7	1	9	9	3	1	3	2	3	38
„ „ lobatum	—	—	a_1 f	a_1 b c e f g	—	a_2 e f	—	—	—	2	1	1	1	0	0	2	3	1	11
„ „ album	—	—	—	—	—	e	—	a_1	—	1	0	1	1	0	2	3	1	0	9
„ „ Gorinii	—	c d e f g	—	—	e f	—	—	f	—	0	0	0	1	1	0	2	4	1	9
Bac. lactis cochleatus	—	—	—	—	d e f	—	—	—	a_3 e	3	2	0	0	1	3	2	3	4	18
„ „ Pruchii	—	—	—	—	—	—	d	—	—	1	1	0	1	1	1	1	1	1	8
Kleine Hefe	a_2 c d a_3 e f g	a_2 b c d a_3 e f g	a_2 b c d e f g	a_2 b c d e f g	a_2 b c d a_3 e f g	a c d a_3 e f g	a_2 b c d a_3 e f g	a_2 b d a_3 e f g	b c d e f	5	13	16	16	15	10	20	16	16	127
Verflüssigende Hefe	c d	a_1 b d g	—	a_3	—	g	—	—	c	3	0	3	5	3	1	3	4	5	28
Rosa Hefe	—	—	—	—	a_2 e g	d g	—	—	a_1 c	2	2	3	3	3	2	0	0	3	18
Runde Hefe	—	—	a_3	a_3	—	a_2 d f	a_3	—	a_2 a_3	0	5	0	1	1	6	0	2	1	16
Streptothrix	—	a_1 d g	a_1 c	a_1 d	—	a_1 c	d e	a_1 c	c d	9	4	2	6	10	1	5	5	4	46
Oidium lactis	a_2	—	a_1	—	a_1	—	—	a_1 a_2 b c a_3 e f g	d	9	4	7	4	4	4	4	3	5	44
Penicillium glaucum	a_2	a_2 a_3	a_1 a_2 d	a_1 a_2	a_1 a_2	a_1 a_2 a_3	—	a_1 a_2 d a_3	a_1 a_2 b	10	15	2	4	5	7	0	1	1	44
Aspergillus glaucus	a_2 a_3	a_2	—	a_1	a_1 c d	a_1	a_1 b	a_1 b	b c a_3	8	7	5	3	5	2	0	0	0	30

1. Milchsäurebakterien	157mal in 20 Proben	
2. Kleine unregelmäßige Hefe	127 „ „ 20 „	
3. Micrococcus lactis varians (71 + 137 var. 0)	84 „ „ 16 „	
4. Streptothrix	46 „ „ 18 „	
5. Oidium lactis	44 „ „ 14 „	
6. Penicillium glaucum	44 „ „ 14 „	
7. Bacterium lactis Connii	38 „ „ 16 „	
8. Aspergillus glaucus	30 „ „ 16 „	
9. Micrococcus lactis aureus	27 „ „ 10 „	
10. Verflüssigende Hefe	26 „ „ 11 „	
11. Bacillus lactis cochleatus	18 „ „ 6 „	
12. Rosa Hefe	17 „ „ 7 „	
13. Runde Hefe	16 „ „ 10 „	
14. Micrococcus lactis albidus	16 „ „ 11 „	
15. Bacterium lactis lobatum	11 „ „ 3 „	
16. Bacterium lactis album	9 „ „ 7 „	
17. Bacterium lactis Gorinii	9 „ „ 4 „	
18. Maltosehefe	9 „ „ 4 „	
19. Bacillus lactis Pruchii	8 „ „ 3 „	
20 Arten	736 Kult. in 20 Proben	

Außerdem wurden gefunden:

	35	verschiedene Arten je 1mal	35	Kulturen
	14	„ „ „ 2 „	28	„
	3	„ „ „ 3 „	9	„
	7	„ „ „ 4 „	28	„
	5	„ „ „ 5 „	25	„
	3	„ „ „ 6 „	18	„
	67	verschiedene Arten mit	143	Kulturen
+	20	„ „ „	736	„
	87	verschiedene Arten mit	879	Kulturen

die einzelnen Proben und die verschiedenen Kalthäuser. Die Frequenz von Micrococcus lactis varians nimmt im Februar in den kälteren Proben e, f und g ein wenig zu, während in den wärmeren a_2 und a_3 ein Rückgang zu verzeichnen ist. Die orangefarbene Varietät ist in der alten Butter ausgestorben. Micrococcus lactis aureus nimmt im November ein wenig zu, sinkt dann aber wieder. Micrococcus lactis albidus ist ein wenig zurückgegangen.

Bacterium lactis Connii erreicht im November in b und c eine recht bedeutende Frequenz, die bis zum Februar wieder verschwunden ist; vermutlich ist es nach dem Kulminationspunkt im November durch seine eigenen Stoffwechselprodukte abgestorben. Die anderen drei Bakterien sowie Bacillus lactis cochleatus treten erst im Februar etwas häufiger auf.

Die kleine unregelmäßige Hefe hat, sowohl was Zahl wie Häufigkeit anbetrifft, eine außerordentliche Zunahme zu verzeichnen. In dem Kalthaus a kam sie wegen der höheren Temperatur zur schnelleren Entwickelung und gibt gelegentlich mehrere Millionen Zellen in 1 g Butter; der schnelleren Entwickelung folgt ein schnelles Absterben. Bei tieferer Temperatur war die Anzahl der Zellen nicht so hoch, dagegen nahm die Häufigkeit ihres Vorkommens zu. Sie ist in sämtlichen 20 Proben, obgleich nicht in allen Fässern, gefunden worden. Die verflüssigende Hefe ist auf die kälteren Proben leidlich gleichmäßig verteilt, in den warmen seltener. Die runde Hefe beschränkt sich fast ausschließlich auf das Kalthaus a; die höhere Temperatur scheint für sie eine wesentliche Existenzbedingung zu sein.

Die Streptothrix zeigt ein unregelmäßiges Vorkommen, vermutlich weil es unmöglich ist, von diesen zusammenklebenden, zähen Fäden eine gleichmäßige Verteilung in Flüssigkeiten oder Nährmedien zu erzielen. Von den Schimmelpilzen zeigt Oidium einen langsamen Rückgang.

Penicillium und Aspergillus nehmen schneller ab, halten sich aber besser in den wärmeren Proben.

Die Anzahl der Bakterien in Butter geht erfahrungsgemäß zurück, und zwar recht bedeutend. Wenn wir unsere Bakterien in Milchsäurebakterien und Nichtmilchsäurebakterien gruppieren und bei letzteren wieder die verflüssigenden Bakterien als Untergruppe nehmen, so erhalten wir im Durchschnitt der 16 normalen Proben folgende Zahlen, welche die überlebenden Bakterien in Prozenten der ursprünglichen Zahl in frischer Butter angeben.

Von der ursprünglichen Anzahl waren noch am Leben:

	im November				im Februar			
	a_2	b	c	d	a_3	e	f	g
von Milchsäurebakterien	0,03	16,9	15,1	14,4	—	5,9	6,0	6,1
„ Nichtmilchsäurebakterien	1,6	12,9	20,6	12,2	5,0	17,8	20,0	15,0
„ verflüssigenden Bakterien	3,0	19,7	23,2	10,1	10,0	28,1	41,9	26,0

Die Abnahme der Milchsäurebakterien und der Nichtmilchsäurebakterien ist demnach nicht parallel. Die verflüssigenden Bakterien zeigen nach einer anfänglichen Abnahme wiederum eine sehr beträchtliche Zunahme, die weit außerhalb der Fehlergrenzen liegt. Dieser Umstand ist ebenfalls geeignet, die Zersetzung von Proteinstoffen mit den Geschmackssubstanzen alter Butter in Beziehung zu bringen.

Die Abnahme der Milchsäurebakterien steht jedenfalls in nahem Zusammenhange mit dem Salzgehalt. Wenn wir die Konzentration des Salzes im Wasser der Butter berechnen und unsere Proben nach dieser Konzentration in 3 Gruppen ordnen, so bekommen wir folgende Durchschnittszahlen für die überlebenden Milchsäurebakterien in Prozenten der Anfangszahl:

Salzkonzentration	Durchschnitt	b	c	d	e	f	g
8,3—10,8 Proz.	9,4 Proz.	7,9	7,8	17,3	2,4	3,6	3,3
13,7—20,0 „	16,8 „	16,3	17,0	7,5	6,7	5,7	5,9
20,1—31,3 „	25,1 „	23,5	20,0	19,8	8,6	8,9	9,1

Es ist offenbar, daß die höhere Salzkonzentration die Bakterien besser konserviert. Dies ist vermutlich so zu erklären, daß der Gefrierpunkt der schwach gesalzenen Butter höher liegt und daß diese Proben im Kalthaus gefroren waren und die Bakterien infolgedessen schneller starben, während in den stark gesalzenen Proben die konzentriertere Lösung nicht fror und so den Bakterien nicht so verderblich wurde.

Diese Ueberlegung läßt die gleichzeitige Anwendung von Salz und Kälte unvorteilhaft erscheinen. Wir wissen, daß Bakterien noch bei etwa $-\frac{1}{2}{}^{0}$ C sich vermehren, wenn die Lösung nicht gefroren ist. Sollte dies auch noch bei -5^{0} bis -10^{0} der Fall sein, so würde die Anwendung von Kälte ohne jeden Salzzusatz das Vorteilhafteste sein. Die von Gray gefundene Tatsache, daß unterhalb des Gefrierpunktes schwach gesalzene Butter sich besser hält, als stark gesalzene, spricht für diese Annahme.

Daß bei Temperaturen dicht über dem Gefrierpunkt die Bakterien sich verhältnismäßig schnell entwickeln, konnten wir durch eigene Versuche feststellen. Gelatineplatten von frischer Butter wurden im Kalthaus a ($+4^{0}$ C) aufbewahrt und nach 4 Wochen gezählt. Sie enthielten etwa ein Drittel der Bakterien von normalen Vergleichsplatten. Milchsäurebakterien entwickelten sich in großer Menge.

Aus diesen vorläufigen Untersuchungen Schlußfolgerungen zu ziehen, wäre verfrüht. Der Zweck der Arbeit war, eine Orientierung über die wissenschaftlichen Probleme der Kalthausbehandlung von Butter zu erlangen. Diese Probleme könnten etwa folgendermaßen entworfen werden:

Zuerst muß festgestellt werden, welche Stoffe der Butter den ranzigen, talgigen, fischigen Geschmack geben, dann muß nach der Ursache ihrer Entstehung geforscht werden, und erst wenn man diese kennt, kann systematisch auf eine haltbare Butter hingearbeitet werden.

Die Geschmacksstoffe sind vermutlich nicht immer freie Säuren oder flüchtige Ester, schon andere Autoren haben daran gezweifelt; wir haben die Mehrzahl unserer ranzigen Proben ohne jede Vermehrung von freien Säuren gefunden. Es muß festgestellt werden, ob eine andere Art der Fettzersetzung als die hydrolytische unter den vorliegenden Bedingungen möglich ist, oder ob es sich um Zersetzung anderer Stoffe, namentlich des Kaseins, handelt. Es sei nochmals darauf hingewiesen, daß wir nur wenige fettspaltende Bakterien, dagegen viele verflüssigende Bakterien fanden, welche sich in der Butter nach längerer Zeit vermehrten.

Wenn die Stoffe gefunden sind, die die alte Butter ungenießbar machen, ist zunächst der Ursache ihrer Entstehung nachzuforschen; sie wird vermutlich in gewissen Mikroorganismen gefunden werden. Steriler Rahm muß mit diesen Organismen verbuttert werden, um einwandsfrei zu beweisen, daß sie die gefährlichen Arten sind. Es kann sich nur um solche Arten handeln, die in Butter häufig vorkommen. Dazu können unsere Häufigkeitstabellen ein wenig beitragen.

Ist man sich über die betreffenden Arten von Organismen sicher, so ist nach deren Ursprung und gewöhnlichem Vorkommen zu forschen und die Quelle dieser gefährlichen Verunreinigung zu vermeiden. Außerdem wird man die Entwickelung dieser Organismen in Butter so stark wie möglich zu unterdrücken suchen müssen, entweder durch Salz oder Kälte. Besondere Untersuchungen werden gemacht werden müssen, um die Brauchbarkeit einer gemeinsamen Anwendung von Salz und Kälte zu prüfen.

Quantitative und qualitative Untersuchungen über die Bakterien, Hefen und Pilze der Butter und über den Einfluss des Kochsalzes auf dieselben. Welcher Kochsalzgehalt ist für Dauer- oder Exportbutter[1]) zulässig?

[Mitteilung aus dem bakteriologischen Laboratorium der Versuchsstation für Molkereiwesen zu Kiel (Vorstand: Prof. Dr. H. Weigmann).]

Von Dr. **Otto Fettick**,

Hilfsprofessor an der Königl. ung. tierärztlichen Hochschule zu Budapest.

Das Verhalten der Bakterien und anderer Mikroorganismen (Hefen, Pilze) in der Butter ist schon von einigen Forschern untersucht worden, jedoch sind die Resultate sehr verschieden und mit den Erfahrungen der

1) Die butterkonservierende Wirkung des Salzes ist schon seit lange bekannt, doch bedient man sich derer erst seit neuerer Zeit und nur in jenen Ländern, wo die Butter auch für Exportzwecke hergestellt wird. Besonders in Norddeutschland, in Dänemark, in Norwegen und Schweden salzt man die Butter. In diesen Ländern hat das Volk sich schon so sehr an den Geschmack der gesalzenen Butter gewöhnt, daß sogar schon die auf den inländischen Markt kommende Butter gesalzen wird. Ungarn, Oesterreich, die Schweiz, Süddeutschland und Frankreich konsumieren fast ausnahmslos ungesalzene Butter.

Praxis wenig übereinstimmend. Dagegen wurden über das Verhalten der erwähnten Mikroorganismen in gesalzener und ungesalzener Butter kaum einige Versuche angestellt, so daß es nicht überflüssig schien, Versuche vorzunehmen, um zu erörtern bezw. festzustellen, welcher Kochsalzgehalt für Dauer- oder Exportbutter notwendig ist.

Krueger (1890) war der erste, der die Bakterien der Butter studierte und der die Ursache der Butterfehler in der Wirkung von Bakterien suchte; er ermittelte, daß in einer käsigen Butter unter anderen ein verflüssigender Coccus, Micrococcus acidi lactici, Bacillus fluorescens non liquefaciens, sowie Oidium lactis vorhanden waren. Lafar (1890) hat außer einer qualitativen auch eine quantitative Analyse vorgenommen und festgestellt, daß im Innern der Butter die Zahl der Bakterien viel geringer ist, als in den äußeren Teilen, in denen sich dieselben von 10 bis 20 Millionen auf das Zwanzigfache vermehren können. Die kleinste Zahl der Bakterien, welche Lafar in 1 g Butter fand, war 6700111, die größte aber von 10—20 Millionen. Lafar konstatierte, daß die Bakterien sich während der Steigerung des Säuregrades der Butter wesentlich verringern, zugleich gab er der Ansicht Ausdruck, daß das Ranzigwerden der Butter wahrscheinlich durch anaërobe Mikroorganismen verursacht werde. Von ihm sind außer Milchsäurebakterien das Bact. lactis aërogenes, ein Bact. butyri colloideum, Bac. butyri fluorescens und ein Sproßpilz gefunden worden. Die Butter konservierende Eigenschaft des Salzes ist auch aus Lafars Untersuchungen bekannt geworden; er stellte fest, daß das Salz auf die Vermehrung der in der Butter befindlichen Bakterien hemmend wirkt.

Aehnliche Resultate erzielte bei seinen Untersuchungen Eichholz; auch er ermittelte, daß die Zahl der Bakterien sich in ranziger Butter wesentlich verminderte. In einer zwei Jahre alten Butter konnten nur noch die Sporen des Penicillium glaucum und des Bac. subtilis aufgefunden werden. Dasselbe fand Rogers bei einer 8 Monate alten Butter. Klecki isolierte aus einer ranzigen Butter einen Diplococcus, einen Tetracoccus und noch dreierlei andere Bakterien.

Sigismund war anderer Ansicht; er dachte nämlich, daß das Ranzigwerden der Butter mit der Vermehrung der Bakterien Schritt halte, demnach wären um so mehr Bakterien in der Butter, je ranziger dieselbe ist. Er mußte sich aber bald infolge seiner eigenen Untersuchungen davon überzeugen, daß die sehr ranzigen Butterproben beinahe steril waren.

Das Salzen der Butter geschieht in der Weise, daß die aus dem Butterfasse genommene Rohbutter nach Waschung mit reinem, gewöhnlichem (an vielen Orten mit pasteurisiertem) Wasser flüchtig geknetet wird, um einen Teil der zwischen den Fettkügelchen befindlichen Buttermilch und des Wassers auszupressen. Die durch Waschen und Kneten erfolgte teilweise Beseitigung der Buttermilch übt auf die Haltbarkeit der Butter einen sehr vorteilhaften Einfluß aus, weil dadurch der für die Bakterien so sehr günstige Nährboden ziemlich ausgeschaltet wird. Im reinen Butterfett gehen die Bakterien und Fadenpilze schon wegen Wassermangels zugrunde. Nach dem Abwägen der Buttermasse wird das Quantum des beizumengenden Salzes bestimmt (zumeist 2,5—3 Proz.), welches auf die Buttermasse gestreut und mit derselben locker zusammengeknetet wird, oder aber es wird die so bestreute Butter mit Hilfe des Butterspatels einfach zusammengerollt und 6—24 Stunden stehen gelassen. Wie lange die so bereitete Butter stehen bleibt, das hängt von der Menge des Salzes, von der Feinheit der Salzkristalle und von der Temperatur des Lokales ab. Die in der Butter befindlichen kleinen Buttermilch- und Wassertröpfchen sammeln sich während des Stehens infolge der hygroskopischen Eigenschaft der Salzkristalle zu größeren Tropfen an, welche durch das darauffolgende eingehende Kneten aus der Butter herausgepreßt werden. Die Butter wird also infolge des Salzens gut konservierbar, schmackhaft und ärmer an Wasser, welches nunmehr 8—15 Proz. beträgt.

Schmidt bestimmte die Keimzahl der aus pasteurisiertem Rahm bereiteten gesalzenen und der aus gewöhnlichem Rahm bereiteten ungesalzenen frischen Butter. In 1 g der ersteren fand er 62000, in dem der zweiterwähnten aber 7918760 Keime. In letztgenannter Butter, die in einem finsteren, luftigen Raume aufbewahrt wurde, konnten am 17. Tage die meisten Bakterien (26938000) konstatiert werden.

Nach C. O. Jensen findet allerdings in Sauerrahmbutter eine allmähliche Abnahme der Milchsäurebakterien statt, demgegenüber vermehren sich aber andere Mikroorganismen, so daß die Gesamtmenge der Bakterien ziemlich gleich bleibt. In Süßrahmbutter dagegen ist im Innern in den ersten Tagen eine Zunahme verschiedener Milchsäurebakterien und Hefen, und darauf erst erst eine Abnahme zu beobachten; die verflüssigenden Bakterien (mit Ausnahme des selbst Säure produzierenden verflüssigenden Micrococcus acidi lactici) und Oidium lactis nehmen stetig ab. An der Oberfläche findet ebenfalls eine Zunahme der Gesamtzahl statt, an der sich anfangs besonders Bac. fluorescens liquefaciens, eventuell auch Bac. prodigiosus beteiligen; später überwuchern Oidium lactis, Cladosporium butyri und Hefen.

Auf ganz entgegengesetzte Resultate kommen A. E. Loveland und W. J. Watson. Sie haben festgestellt, daß mit dem Alter der Butter die Menge der Bakterien sich bedeutend verringert, und zwar gleich in den ersten Stunden nach der Bereitung am raschesten im Innern, und in gesalzener Butter mehr wie in ungesalzener. Zwei Proben ungesalzener frischer Butter enthielten 46 und 115, zwei gesalzene 20 und 54 Millionen Keime in 1 g; nach einem Jahre befanden sich in den gesalzenen Butterproben 109000 und 149006 Keime.

Hellström fand in der 2,74 Proz. Salz enthaltenden Butter am 8. Tage 2750, in einer 0,50 Proz. Salz enthaltenden aber am 3. Tage 578500 Keime.

Außerdem vollzogen noch Lorenz, C. O. Jensen und Teichert Bakterienzählungen. Lorenz hat die Bakterien in 40 Butterproben untersucht, und fand, daß deren Menge zwischen 83000 und 49280000 schwankte; in 1 g Butter waren durchschnittlich 9212870 Keime. C. O. Jensen fand in derselben Menge 88000—13000000, Teichert 54176 bis 22010000. Teichert untersuchte auch die Bakterienflora der Posener Butter. Nach seinen Angaben verteilen sich die Bakterien in 1 g Butter in folgender Weise:

Milchsäurebakterien	8 599 000
Kleinzellige Torula-Hefen	1 326 000
Oidium lactis	58 000
Rote Gärpilze	13 000
Schimmelpilze	2 100
Penicillium glaucum	1 400
Mucor mucedo	500
	10 000 000

R. Gripenberg hat mit Butterproben, in welchen Schimmelpilze vorgekommen waren, sehr umfangreiche Versuche ausgeführt; aus diesen Versuchen geht hervor, daß die Schimmelbildung in höchst wesentlichem Grade durch Salzzusatz gehemmt wird und daß Mucor gar nicht zu wachsen vermag, wenn die Flüssigkeit eine so unbedeutende Menge von Kochsalz, wie 5 Proz. enthält. Weiter, daß Mucor, Penicillium und Trichosporium diejenigen Pilzgattungen sind, welche in der Butter am häufigsten vorkommen.

Wie also aus Vorhergehendem ersichtlich ist, waren die in der Butter vorkommenden Keime sowie die Schwankung ihrer Menge in verschieden alter und in gesalzener Butter kaum einer exakten bakterio-

logischen Untersuchung unterzogen worden. Noch weniger wurde auf bakteriologischer Grundlage die Frage erörtert, wieviel Salz der Exportbutter beizumengen sei.

Die Frage, welcher Kochsalzgehalt für Export- oder Dauerbutter zulässig sein sollte, hat in den letzteren Jahren in Preußen Veranlassung zu mehreren an den Bundesrat gerichteten Eingaben gegeben. In diesen wurde ein höherer Salzgehalt als 3 Proz. für die Export- oder Dauerbutter erforderlich bezeichnet. Zur Begründung dieser Forderung wurde ausgeführt, daß die Exportbutter zur Erhöhung ihrer Haltbarkeit stärker gesalzen sein müsse, und darauf gestützt, daß im Auslande, z. B. in Frankreich, Dänemark usw., aus diesem Grunde stärker gesalzene Dauerbutter unbeanstandet angefertigt werden darf. Einige Handelskammern haben dieser Ansicht Ausdruck gegeben, daß zum Konservieren von Dauerbutter ein höherer Salzgehalt als 3 Proz. erforderlich sei, und es wurden Mengen von 4—5 Proz. in Vorschlag gebracht.

Die Folge dieser Anforderungen war, daß zur Erörterung dieser Frage im Kaiserlichen Gesundheitsamte durch A. Kraus sehr ausführliche Versuche vorgenommen wurden, welche festgestellt haben, daß Butter ohne Kochsalzzusatz sich sehr schwierig hält, daß dagegen ein wesentlicher Unterschied in der Haltbarkeit der mit 3 oder 5 Proz. Kochsalz versetzten Butter nicht zu beobachten sei. Ein Kochsalzzusatz von 6 oder 10 Proz. beeinträchtigt sogar die Haltbarkeit der Butter. Bakteriologische Versuche wurden nicht vorgenommen; die Butterproben wurden nach Rückkehr von einem überseeischen Transport auf Geschmack und Geruch geprüft.

Wie aus diesen Angaben hervorgeht, ist die wichtige Frage, welcher Kochsalzgehalt für Dauer- oder Exportbutter erforderlich und zulässig ist, auf bakteriologischer Grundlage nicht beantwortet worden.

Im bakteriologischen Laboratorium der Kieler Versuchsstation für Molkereiwesen wurden im Jahre 1906 Untersuchungen vorgenommen, welche sich einerseits Feststellungen über die Bakterienflora der gesalzenen und der ungesalzenen Butter, den Einfluß des Kochsalzes auf dieselbe und ferner die Höhe der erforderlichen Menge von Kochsalz für Dauerbutter zum Ziele setzten.

Zu den Versuchen wurde eine aus saurem pasteurisierten Rahm ohne besondere Vorsichtsmaßregeln gewonnene Butter verwendet, welche aus dem täglichen Betrieb der hiesigen Meierei stammte; der Fettgehalt der Butter betrug 85,47 Proz., der Wassergehalt 8,53 Proz. Die Säuerung des Rahmes wurde mit Reinkulturen der echten Milchsäurebakterien hervorgebracht. Ein Teil dieser Butter wurde ohne, ein anderer Teil mit 3 Proz. Kochsalz versetzt und unter den nötigen Kautelen in ein steriles Glasgefäß gebracht. Die Oeffnung des Gefäßes wurde mit einem dichten Wattepfropfen verschlossen, und zur Fernhaltung der Sonnenstrahlen mit einer leeren Blechdose überdeckt. Die Aufbewahrung der so verpackten Butterproben erfolgte an einem kühlen Orte des Korridors, wo in den Wintermonaten die Temperatur zwischen 0—6° C, in den Frühlingsmonaten zwischen 8—18° C variierte.

Die zu den einzelnen Untersuchungen nötige Buttermenge wurde immer nach vorhergegangenem Abbrennen des Wattepfropfens mit einem sterilen Spatel aus der ungefähr 250 g betragenden Buttermenge entnommen. Die Zählung und die qualitative Analyse der Bakterien wurde einige Monate hindurch jeden 10. Tag, später zweiwöchentlich, noch später in einem Zeitraum von 23—30 Tagen vorgenommen. Die Verdünnung war 1 : 125, die Zählung der auf den Agar- und den Gelatine-

platten gewachsenen Kolonieen wurde am 3. oder 4. Tage vorgenommen. Die Agarplatten wurden bei einer Temperatur von 34° C gehalten.

Der Einfluß, welchen das Salz auf die Mikroorganismen der Butter ausübte, ist in der folgenden Tabelle angeführt:

Tabelle I.

1906	Die Verdünnung war	Die Zählung der auf den Agar- entwickelten Kolonieen erfolgte	und Gelatineplatten entwickelten Kolonieen erfolgte	Zahl der in 1 g gesalzener Butter gefundenen Mikroorganismen	Zahl der in 1 g ungesalzener Butter gefundenen Mikroorganismen
11. Januar	1 : 125	am 3. Tage	am 5. Tage	25 408	29 303
21. „	„	„	„	23 539	72 782
1. Februar	„	„	„	242 588	400 178
10. „	„	„	„	290 868	409 372
20. „	„	„	„	317 540	417 639
4. März	„	„	„	338 196	500 210
13. „	„	„	„	327 938	559 771
27. „	„	„	„	320 291	604 853
10. April	„	„	„	302 430	643 040
27. „	„	„	„	297 027	658 732
14. Mai	„	„	„	272 411	632 432

In 1 g der gesalzenen Butter waren bei dem Beginn der Untersuchungen 25408, in dem der ungesalzenen 29303 Keime. Nach 10 Tagen war keine Vermehrung der Keime in der gesalzenen Butter vorhanden, vielmehr war eine Abnahme eingetreten, indem nur 23539 Keime gezählt wurden. Demgegenüber war die Keimzahl in der ungesalzenen Butter um das Dreifache vermehrt, sie war nämlich von 29303 auf 72782 gestiegen. In den darauffolgenden 10 Tagen war in der ungesalzenen Butter das Wachstum der Keime noch beträchtlicher; in der 20 Tage alten ungesalzenen Butter betrug die Zahl der Mikroorganismen schon 400178. Auch die gesalzene Butter enthielt am 20. Tage bedeutend mehr Keime, als am 10. Tage (ihre Zahl wuchs von 25539 auf 242588), nichtsdestoweniger war aber deren Zahl im Vergleiche zu der der ungesalzenen Butter beträchtlich geringer. In der einen Monat alten ungesalzenen Butter konnten neuerdings mehr Keime gefunden werden, als in der gesalzenen; erstere enthielt nämlich 409372, die letztere 290868 Keime. Am 40. Tage betrug die Zahl der Keime in der ungesalzenen Butter 417639, in der gesalzenen hingegen nur 317540. Noch größer war der Unterschied am 52. Tage, an welchem erstere 338196, die letztere aber schon 500210 Keime aufwies.

Wie aus dem Vorhergehenden ersichtlich ist, dauert die Vermehrung der Keime am 52. Tage noch fort, sie begann in der ungesalzenen Butter in den ersten, in der gesalzenen erst in den zweiten 10 Tagen, woselbst das Wachstum der Keime viel langsamer vorschritt, als in der ungesalzenen Butter. In beiden Sorten war das Wachstum der Mikroorganismen während der zweiten 10 Tage am besten.

Betrachten wir nun, wie die Keime sich in der mehr als 52 Tage alten Butter verhalten. Am 62. Tage waren in der gesalzenen Butter kaum mehr Keime, als am 52., hernach verringerten sie sich allmählich, so daß in der 75-tägigen gesalzenen Butter nur noch 320291, in der 89 Tage alten 302430, in der 106 Tage alten 297027, in der 124 Tage alten nur noch 272411 Keime aufzufinden waren.

Anders gestalteten sich die Umstände in der ungesalzenen Butter, wo die Keime sich am 106. Tage noch in voller Vermehrung befanden und erst am 124. Tage abzunehmen begannen. Die ungesalzene Butter

enthielt nämlich am 62. Tage 327938, am 75. 604853, am 89. 643040, am 106. 658232 und am 124. Tage 632432 Mikroorganismen.

Aus diesen Daten geht hervor, daß das Salz auf den Keimgehalt der Butter von großem Einfluß ist, da das Wachstum der Mikroorganismen in der ungesalzenen Butter viel üppiger ist, als in der gesalzenen. Die Mikroorganismen der ungesalzenen Butter waren am 106. Tage noch in fortdauernder Vermehrung begriffen, die der gesalzenen aber entwickelten sich von Anfang an langsamer, und begannen in der zwei Monate alten Butter schon sich zu verringern, da die Lebensbedingungen sich daselbst für sie ungünstig gestalteten. Die Vermehrung der Keime war so in der gesalzenen wie in der ungesalzenen Butter in den zweiten 10 Tagen am bedeutendsten. Die gesalzene Butter enthielt am 52., die ungesalzene aber am 106. Tage die meisten Mikroorganismen (in ersterer waren daselbst 338196, in letzterer 658732 Keime). In der ungesalzenen Butter konnte noch am 106. Tage eine Vermehrung der Keime festgestellt werden (658732), und erst am 124. Tage trat ein Fallen der Keimzahl ein.

Diese Resultate der Untersuchungen stimmen mit den von Loveland und Watson publizierten nicht überein, welche beobachteten, daß die Zahl der Mikroorganismen in der Butter vom Anfang an in fortwährendem Sinken begriffen sei, und zwar am auffallendsten in der ganz frischen Butter. Schmidts Beobachtungen decken sich teilweise mit den meinigen; er fand in der aus frischem pasteurisierten Rahm bereiteten gesalzenen Butter viel weniger Keime, als in der aus gewöhnlichem Rahm bereiteten ungesalzenen Butter. Schade, daß Schmidt seine weiteren Untersuchungen bloß auf den Keimgehalt ungesalzener Butter erstreckte. Er konstatierte, daß die Zahl der Keime in der aus gewöhnlichem Rahm bereiteten ungesalzenen Butter am 17. Tage ihren Höhepunkt erreichte. In 2½ Monate alter Butter, welche frei und unbedeckt an der Sonne stand, konnte Schmidt keine Keime mehr nachweisen.

Teicherts Beobachtungen konnte ich bestätigen; er bemerkte nämlich, daß die Mikroorganismen der Butter sich anfangs vermehren, später aber sukzessive abnehmen. So fand z. B. Teichert in einer Butter, welche ursprünglich 4384920 Keime enthielt, am 56. Tage nur mehr 299270. Gänzlich keimfrei wurde die Butter auch späterhin nicht.

Der Einfluß des Salzens auf die Schimmelpilze der Butter.

Im Laufe der weiteren Untersuchungen war ich bestrebt, zu erforschen, wie sich in dem geschilderten Wechsel der Keimzahl die einzelnen Bakterienarten und die höheren Pilze beteiligen. Von großer Wichtigkeit schien die Frage zu sein, wie sich die einzelnen Schimmelpilze (Oidium lactis, Penicillium glaucum) dem Salzgehalt gegenüber verhalten, da letzterem bei einigen Geschmacksveränderungen der Butter (ranziger, bitterer, öliger, Roquefortähnlicher Geschmack) eine große Rolle beizumessen ist. Um nun die auf die Schimmelpilze ausgeübte Wirkung des Salzes zu beurteilen, notierte ich bei jeder Zählung der auf den Plattenkulturen entwickelten Kolonieen aus der oben erwähnten Butter zugleich die Zahl der Kolonieen der genannten Pilze. Die zweite Tabelle enthält separat die Zahl der Bakterien (inkl. der Hefen) und der Schimmelpilzkolonieen.

Tabelle II.

1906	Zahl der in 1 g gesalzener Butter gefundenen Spalt- und Sproßpilze	Zahl der in 1 g gesalzener Butter gefundenen Fadenpilze	Zahl der in 1 g ungesalzener Butter gefundenen Spalt- und Sproßpilze	Zahl der in 1 g ungesalzener Butter gefundenen Fadenpilze
11. Januar	24 624	784	28 616	687
21. „	22 789	750	63 407	9 375
1. Februar	202 261	327	346 428	53 750
10. „	290 627	241	310 247	99 125
20. „	317 432	108	308 014	109 625
4. März	338 114	82	301 422	198 788
13. „	327 938	—	296 342	263 429
27. „	320 291	—	287 221	317 632
10. April	302 430	—	260 636	382 404
27. „	297 027	—	247 100	411 632
14. Mai	272 411	—	235 130	397 302

Wie aus dieser Tabelle ersichtlich ist, entwickelten sich am Anfange der Untersuchungen aus 1 g der gesalzenen Butter 784, und aus dem der ungesalzenen 687 Fadenpilzkolonieen, welche größtenteils aus Oidium lactis und nur hier und da aus Penicillium glaucum bestanden. Zugleich wurden in 1 g der gesalzenen Butter 24 624, in dem der ungesalzenen 28 616 Bakterien und Hefen gezählt. Die Bakterien waren größtenteils Milchsäurebakterien. Andere Spaltpilze, namentlich Bac. fluorescens liquefaciens, Bact. lactis aërogenes und Bac. subtilis, waren nur in sehr geringer Menge vertreten. In beiden Buttersorten waren außerdem noch Sarcina lutea und S. rosea, ferner eine in gelben, weißen und bräunlich rosaroten Kolonieen wachsende Hefe. Die weißen und gelben Hefen hatten die Fähigkeit, Milchzucker zu spalten.

Oidium lactis, Penicillium glaucum, ferner die obengenannten einzelnen Spalt- und Sproßpilze waren in der Butter in den verschiedenen Perioden folgendermaßen verteilt: In 1 g der gesalzenen Butter fanden sich am 10. Tage 750, am 20. 327, nach einem Monat 241, am 40. Tage 108, am 52. nur noch 82 Fadenpilze vor. Am 61. Tage waren in der gesalzenen Butter keine Oidium- und Penicillium-Kolonieen mehr zu finden.

Die allmähliche Abnahme der Fadenpilze wurde durch die Vermehrung der Spalt- und Sproßpilze ersetzt. Die Zahl der letzteren sank in den ersten 10 Tagen von 24 624 auf 22 789, am 20. Tage auf 202 261, am 30. stieg sie auf 290 627, am 40. auf 317 432, und am 52. Tage schon auf 338 114. Zu dieser Zeit, in der die Schimmelpilze schon abgestorben sind, fängt auch die Zahl der Spaltpilze und Hefen zu sinken an, und am 123. Tage waren in 1 g der gesalzenen Butter nur noch 272 411 Bakterien und Hefen vorhanden.

Sehen wir nun, wie sich die Verhältnisse der ungesalzenen Butter gestalten. Anfangs waren in 1 g dieser Butter 687, nach 10 Tagen 9375, also beiläufig 14mal mehr Fadenpilze vorhanden. Auch während der zweiten 10 Tage war die Vermehrung der Schimmelpilze sehr stark, ihre Zahl betrug jetzt schon 53 750. Die weiteren Untersuchungen lieferten ähnliche Ergebnisse. Aus 1 g der ungesalzenen Butter entwickelten sich am Ende des ersten Monats 99 125, am 40. Tage 109 625, am 52. 198 788, am 61. 263 429, am 106. 411 632 und am 125. Tage 397 302 Schimmelpilzkolonieen. In den ersten 20 Tagen wuchs die Zahl der Bakterien und der Hefen ebenso schnell, wie die der Schimmelpilze; und zwar in

der Weise, daß neben den anfangs in größerem Quantum vorhandenen, aber sich langsamer entwickelnden Spalt- und Sproßpilzen, auch die sich schneller entwickelnden Schimmelpilze Platz fanden. Vom 20. Tage angefangen, fällt die Zahl der Spalt- und Sproßpilze, die der Schimmelpilze aber noch nicht. Demzufolge waren in der ungesalzenen Butter am Anfang des 3. Monats die Spalt-, Sproß- und Schimmelpilze nahezu in gleicher Zahl vorhanden. Da die Abnahme der ersteren in der darauffolgenden Zeit noch fortdauerte, wurden in der 2½ Monate alten ungesalzenen Butter die Schimmelpilze vorherrschend und die Zahl der Mikroorganismen wurde demzufolge nicht kleiner, trotzdem die Spalt- und Sproßpilze in fortwährender Abnahme begriffen waren; im Gegenteil waren von Zeit zu Zeit immer mehr Keime nachzuweisen.

Bei Beginn der Untersuchungen enthielt 1 g der ungesalzenen Butter 28616 Spalt- und Sproßpilze und 687 Fadenpilze. 10 Tage später betrug die Zahl der ersteren 63407 und die der letzteren 9375. Am 20. Tage erreichten die Spalt- und Sproßpilze ihren Höhepunkt (346428); die Zahl der Schimmelpilze belief sich zur selben Zeit auf 53750. Nach 30 Tagen waren schon weniger Spalt- und Sproßpilze in der ungesalzenen Butter (310247), die Zahl der Schimmelpilze stieg hingegen auf 99125. Am 40. Tage betrug die Zahl der Spalt- und Sproßpilze in 1 g der ungesalzenen Butter 308014, die der Schimmlpilze 109625. Am 52. Tage waren daselbst 301422 Spaltpilze und Hefen und 198788 Schimmelpilze. Die 61 Tage alte ungesalzene Butter enthielt beinahe gleiche Mengen von Spalt- und Sproßpilzen (206342) und von Schimmelpilzen (263632). Am 75. Tage waren schon die Schimmelpilze überwiegend (317428). Auch am 89. und am 106. Tage konnte die Abnahme der Spaltpilze und Hefen mit gleichzeitiger Zunahme der Schimmelpilze konstatiert werden.

Aus diesen Untersuchungen ging hervor, daß die Mikroorganismen der ungesalzenen Butter anfangs hauptsächlich aus Spalt- und Sproßpilzen, später hingegen größtenteils aus Schimmelpilzen bestehen; trotz Abnahme der ersteren verringert sich die Zahl der Keime beiläufig 4 Monate hindurch nicht, weil die Fadenpilze den so entstandenen Abgang ersetzen. Trotz der weiteren Zunahme der Fadenpilze (Oidium lactis, Penicillium glaucum) bedingte der schnelle Rückgang der Spalt- und Sproßpilze im 5. Monate eine rasche Verringerung der Gesamtzahl der Keime.

Da die Fadenpilze (Oidium lactis, Penicillium glaucum) in der gesalzenen Butter schon im 3. Monate ausstarben, rekrutierte sich ihr Keimgehalt hauptsächlich aus Spalt- und Sproßpilzen.

Diese Ergebnisse bestätigen auch, daß das Salz auf das Wachstum der Schimmelpilze von bedeutendem Einflusse ist. Ein Salzgehalt von 2,5 Proz. ist imstande, ihre Vermehrung zu hemmen und einzustellen. In Anbetracht dessen darf man das Salzen der Butter bei den durch Schimmelpilze verursachten Butterfehlern nicht außer acht lassen.

Der Einfluß des Salzes auf die Spalt- und Sproßpilze der Butter.

Nachdem es klar war, welche Wirkung das Salz auf die Schimmelpilze ausübt, trat eine zweite Frage in den Vordergrund, und zwar sollte

in Erfahrung gebracht werden, wie die Milchsäure- und die übrigen in der Butter befindlichen Bakterien, namentlich der Bac. subtilis, Bac. fluorescens liquefaciens, das Bact. lactis aërogenes, die Sarcinen und Hefen sich dem Salze gegenüber verhalten.

Die diesbezüglichen Untersuchungen ergaben folgendes Resultat: Während der ersten 20 Tage vermehrten sich in der ungesalzenen Butter hauptsächlich die Milchsäurebakterien. Die Vegetation der übrigen Pilze (Bac. subtilis, Bac. fluorescens liquefaciens, Bact. lactis aërogenes, Sarcinen und verschiedene Sproß- und Fadenpilze, konnte als minimal bezeichnet werden. In der 20, ja sogar in der 30 Tage alten ungesalzenen Butter herrschten noch immer die Milchsäurebakterien vor. Am 40. Tage ging die Zahl der Milchsäurebakterien herab; die Schimmel- und Sproßpilze, die Sarcinen, ferner der Bac. fluorescens liquefaciens und das Bact. lactis aërogenes traten in den Vordergrund. Am 75. Tage waren letztere in auffallend größerer Zahl vorhanden. Trotzdem aber konnten sogar in der 92 Tage alten ungesalzenen Butter noch Milchsäurebakterien vorgefunden werden, obwohl ihre Menge im Vergleiche mit den übrigen Mikroorganismen sehr gering war. Am 106. Tage waren die Milchbakterien ausgestorben: Die Butter enthielt nun vorwiegend Schimmelpilze, außerdem waren noch Hefen und Sarcinen in beträchtlicher Zahl vorhanden. Gering war die Menge des Bac. subtilis, Bac. fluorescens liquefaciens und Bact. aërogenes. Die am 124. Tage gezüchteten Kulturen wiesen das nämliche Bild auf.

In der gesalzenen Butter war das Wachstum der Keime in den zweiten 10 Tagen am stärksten (s. Tab. I). Auch in der gesalzenen Butter vermehrten sich anfangs hauptsächlich die Milchsäurebakterien, welche sich dann successive verminderten, doch ist zwischen den zweierlei Buttersorten ein diesbezüglicher Unterschied zu konstatieren, indem die Milchsäurebakterien in der gesalzenen Butter länger das Feld beherrschen, als in der ungesalzenen und die Abnahme ihrer Zahl in ersterer viel langsamer vor sich ging, als in der ungesalzenen Butter.

In der 40-tägigen gesalzenen Butter dominierten noch die Milchsäurebakterien, hingegen wurden diese in der ungesalzenen Butter zur selben Zeit von den Schimmelpilzen schon verdrängt. Die gesalzene Butter enthielt sogar noch am 52. Tage Milchsäurebakterien und andere Pilze in nahezu gleicher Menge. Bemerkenswert ist, daß zu dieser Zeit der Bac. fluorescens liquefaciens aus der gesalzenen Butter nicht mehr isoliert werden konnte, ferner war die Zahl der Schimmelpilze daselbst auch sehr gesunken (s. Tab. II). Auch am 75. Tage ist die Zahl der Milchsäurebakterien in der gesalzenen Butter kaum um etwas geringer, als die der übrigen Pilze. Auf den Plattenkulturen entwickelten sich zu dieser Zeit außer den Milchsäurebakterien hauptsächlich Hefen und Sarcinen, in kleineren Mengen die Kolonieen des Bac. subtilis und Bac. aërogenes; Schimmelpilze konnten aus der gesalzenen Butter am 75. Tage nicht mehr gezüchtet werden. Am 92. Tage waren die Milchsäurebakterien schon sehr schwach vertreten, es waren hauptsächlich Hefen und Sarcinen und in geringer Menge Bac. subtilis und Bac. aërogenes vorzufinden. Aehnlich war das Verhältnis in der 106 Tage alten gesalzenen Butter. Aus der 124 Tage alten gesalzenen Butter entwickelten sich keine Milchsäurebakterien mehr; die Platten enthielten nunmehr hauptsächlich Kolonieen von Hefen und Sarcinen, hie und da waren auch Bac. subtilis und Bac. aërogenes sichtbar.

Dieselben Beobachtungen machte C. O. Jensen. Er konstatierte

nämlich, daß die Zahl der Milchsäurebakterien in der aus sauerem Rahm bereiteten Butter allmählich geringer wurde, die übrigen Mikroorganismen hingegen sich so vermehrten, daß die Zahl der Keime eine gewisse Zeit lang nahezu konstant blieb. Jensen prüfte weiterhin die Wirkung des Salzes auf den Bac. fluorescens liquefaciens, der in den oberflächlichen Schichten der aus süßem Rahm bereiteten Butter sich immer vorfindet. Aus seinen Experimenten erwies sich, daß der genannte Bacillus dem Salze gegenüber sehr empfindlich ist. In einer sterilisierten Butter, die 29 Proz. Salz enthielt, konnte der eingeimpfte Bac. fluorescens liquefaciens nicht gedeihen; in dem von mir beobachteten Falle starb der genannte Mikroorganismus in der 2,5 Proz. Salz enthaltenden Butter am 25. Tage ab.

Sehr wichtig schien weiterhin die Frage zu sein, welche Wirkung das Salz auf die in der Milch und demzufolge eventuell auch in der Butter vorkommenden Bakterien ausübt. Bei den diesbezüglichen Untersuchungen beobachtete ich hauptsächlich die zu den Coli- und Aërogenes-Gruppen angehörenden, ferner die Butterfehler verursachenden Bakterien, und zwar einesteils aus dem Grunde, weil auch die ersteren imstande sind, Butterfehler hervorzurufen, anderenteils aber können dieselben auch für den Menschen pathogen werden.

Zur Lösung dieser Frage benutzte ich die auf Tabelle III angeführten Mikroorganismen, mit denen ich reine, sterilisierte und 0,5, 1, 2, 3, 4, 5 und 6 Proz. Salz enthaltende sterilisierte Butter impfte. Nach Verlauf einer Woche, während welcher Zeit die so geimpften Buttersorten auf einem finsteren Platze bei 17° C Temperatur aufbewahrt wurden, goß ich aus jeder Probe Agar- und Gelatine-Plattenkulturen, um die Zahl der sich entwickelnden Kolonieen zu zählen und um zu beobachten, wie viel Salz zur Tötung der verschiedenen Keime nötig sei.

Vor der Impfung wurden die verschiedene Buttersorten enthaltenden Erlenmeyerschen Kolben bis zum Schmelzen der Butter ins Wasserbad gebracht, herausgenommen, geimpft und bis zum Festwerden der Butter fortwährend im Kreise bewegt, damit die Keime sich gleichmäßig verteilen. Die hier verwendeten Mikroorganismen stammten aus der Sammlung der Kieler Versuchsstation für Molkereiwesen. Jede Buttersorte wurde nach vorhergehendem Schmelzen immer mit einer Platinöse der angeführten Mikroorganismen geimpft, so daß die einzelnen Buttersorten am Anfange der Untersuchungen nahezu dieselbe Menge von Keimen enthielten. Da das Salz nur durch das in der Butter vorhandene Serum gelöst werden konnte, und die zu den Untersuchungen verbrauchte sterilisierte Butter 14 Proz. Wasser enthielt, entsprechen die zur Butter gegebenen 0,5, 1, 2, 3 etc. Proz. Salz eigentlich einer Prozentualität von 3,5, 7,1, 14,2, 21,4, 28,5, 35,7 und 42,8.

Das Resultat der Untersuchungen ist aus folgender Tabelle ersichtlich:

(Siehe Tabelle III p. 42.)

Am empfindlichsten waren, wie aus der Tabelle zu sehen ist, Oidium lactis, Penicillium glaucum und Mucor mucedo. In der 2 Proz. Salz enthaltenden Butter waren auffallend weniger von den genannten Pilzen, als in jener Butter, die etwas weniger als 2 Proz. Salz enthielt. Aus der 3 Proz. Salz enthaltenden Butter entwickelte sich nur hie und da eine Kolonie der Fadenpilze, deren Wachstum in der 4 Proz. Salz enthaltenden Butter gänzlich ausblieb. Aehnlich verhält sich der Bac. fluorescens liquefaciens; aus einer Butter, welche 4 Proz. Salz enthielt und mit dem Bac. fluorescens liquefaciens geimpft wurde, konnte derselbe nach Verlauf einer Woche nicht mehr

Tabelle III.

	Die Zahl der aus							
	0 Proz.	0,5 Proz.	1 Proz.	2 Proz.	3 Proz.	4 Proz.	5 Proz.	6 Proz.
	Kochsalz enthaltenden Butter entwickelten Kolonien [1]							
Oidium lactis	unzählbar	630	295	15	3	—	—	
Mucor mucedo	„	1400	700	120	17	—	—	
Penicillium glaucum	130	40	32	18	7	—	—	
Bac. fluor. liquefaciens	270	60	41	15	9	—	—	—
Bac. acidi lactici (Kiel)	329	332	341	310	127	—	—	—
Bac. acidi lactici (Köln)	272	257	264	212	131	—	—	—
Bact. Fragariae	unzählbar	1380	1080	100	13	4	—	—
Bact. Carotae	„	932	135	98	17	3	—	—
Bac. lactis viscosus	310	170	150	30	19	12	—	—
Bac. prodigiosus	481	120	25	5	7	6	—	—
Bac. cyanogenus	unzählbar	unzählbar	2000	1900	1740	1008	16	—
Bac. lactis saponacei	„	„	unzählbar	unzählbar	1932	1904	210	29
Streptothrix chromogena	1108	360	340	150	20	20	15	15
Bac. coli	unzählbar	unzählbar	unzählbar	unzählbar	unzählbar	2070	800	700
Bac. aërogenes	„	„	„	„	„	2100	1650	1200
Bac. subtilis	„	1859	642	550	310	200	150	40
Bac. putrificus	2800	2937	2811	2740	1942	800	300	270
Aus Isignyer Butter gezüchteter, Blumenaroma erzeugender Sproßpilz	unzählbar	unzählbar	1700	1270	910	1100	800	110
Aus staffiger Butter gezüchteter, zuckervergärender Sproßpilz	„	„	unzählbar	2100	1810	1047	700	1660
Aus der zum Versuch gebraucht. Butter gezüchtet I. Sproßpilz	„	„	2327	2020	1710	1400	600	500
II. „	„	„	unzählbar	1960	2100	1640	1108	700
III. „	„	„	2400	1500	1840	1610	970	400

Die Milchsäurebakterien verhielten sich dem Salze gegenüber etwas resistenter; die 3 Proz. Salz enthaltende Butter besaß auf den Plattenkulturen noch ziemlich viel Keime, doch nicht so die 4 Proz. Salz enthaltende Butter, in letzterer waren die Milchsäurebakterien nicht mehr lebensfähig. Das Bact. Fragariae, Bact. Carotae, der Bac. lactis viscosus und der Bac. prodigiosus vertrugen das Salz leichter, als die vorhergenannten. Diese 4 Arten von Mikroorganismen konnten auch aus der 4 Proz. Salz enthaltenden Butter in ziemlich großer Menge isoliert werden; die üppigsten Kolonieen lieferten der Bac. lactis viscosus und der Bac. prodigiosus. Noch leichter wurde das Salz vom Bac. cyanogenus, Bac. lactis saponacei und vom Streptothrix chromogena vertragen. Der Bac. cyanogenus konnte sich noch in einer 5 Proz. Salz enthaltenden Butter, der Bac. lactis saponacei und der Streptothrix chromogena sogar in einer solchen mit 6 Proz. Salz weiterentwickeln.

Am widerstandsfähigsten waren dem Salze gegenüber der Bac. coli, Bac. aërogenes, Bac. subtilis, Bac. putrificus, aus Isignyer (Normandie) und aus Holzgeschmack aufweisender Butter gezüchtete Hefen. Obwohl die genannten Mikroorganismen sogar in der Butter mit 6 Proz. Salz sich entwickeln konnten, war doch die hemmende Wirkung des Salzes aus der geringen Zahl der Kolonieen auch hier klar ersichtlich.

Aus den Ergebnissen dieser Untersuchungen wird nun dieser, aus der Praxis schon bekannte Umstand erklärlich, daß eine gute, entsprechend gesalzene Butter ihren guten, frischen Geschmack viel länger behält, als

1) Die Zahlen führen die in einer Platinösemenge Butter sich befindenden Keime an.

eine gleiche, aber ungesalzene Butter, da das Salz auf das Wachstum der in der Butter vorkommenden Mikroorganismen hemmend wirkt. 2,5 Proz. Kochsalz sind sogar imstande, das Wachstum mancher Butterfehler verursachenden Bakterien (Bac. fluorescens liquefaciens, Oidium lactis, Penicillium glaucum, Mucor mucedo) gänzlich einzustellen. Hervorzuheben ist aber, daß nur eine entsprechende Menge Kochsalz imstande ist, den Geschmack und die Haltbarkeit der Butter günstig zu beeinflussen; mehr als 2,5—3 Proz. Salz wirken direkt beeinträchtigend. Das ist schon eine alte Erfahrung, die man aber bisher nicht zu erklären wußte. Wie aus den Versuchen ersichtlich ist, zerstören 4—5 Proz. Salz die Milchsäurebakterien, welche der Butter einen guten Geschmack und gutes Aroma verleihen, die übrigen Mikroorganismen aber, welche den Geruch und den Geschmack der Butter nachteilig beeinflussen können, gewinnen in der so veränderten Butter die Oberhand, und obwohl das Kochsalz auch das Wachstum dieser ziemlich hemmt, kann ihre nachteilige Wirkung nicht mehr durch die der nun schon abgestorbenen Milchsäurebakterien gesteuert werden. Die Milchsäurebakterien bilden nämlich, wie bekannt, den größten Teil der in der frischen Butter vorkommendcn Mikroorganismen; dieselben verdrängen so ziemlich alle übrigen Keime; wenn die ersteren aber absterben, so haben die übrigen günstige Gelegenheit, ein reges Wachstum zu entfalten. Auf diese Weise ist es leicht erklärlich, warum die versalzene Butter so leicht verschiedenen Geschmaks- und Aromafehlern anheimfällt, und warum fehlerlose Butter nach übermäßigen Salzen verdirbt. Die Ursache dieses Umstandes liegt nicht an und für sich im Salze, wie Siedel meint, sondern in der Wirkung der Bakterien.

Siedel beobachtete nämlich, daß bei 12 Butterproben nach dem Salzen (3 Proz.) bei 6 Fischgeschmack und bei 6 andere Geschmacksfehler auftraten, während die ungesalzene Butter unverändert blieb. Beim Wiederholen des Versuches, der Butter nur 2 Proz. Salz zugemischt wurden, blieben die erwähnten Fehler aus. Da der Geschmack des Salzes normal war und die ungesalzene Butter einen guten Geschmack hatte, so meint Siedel, daß bei den so entstandenen Butterfehlern dieser nicht in der Bakterienwirkung zu suchen sei, sondern vielmehr das Resultat einer Verbindung des Salzes mit gewissen geschmackbildenden Elementen der Butter sei.

Daß diese Ansicht irrig ist, beweist der Umstand, daß, als der Butter bloß 2 Proz. Salz beigemengt wurden, die vorher erwähnten Fehler ausblieben. Wenn das Salz die Fehler verursacht hätte, so hätten die Geschmacksveränderungen, wenn auch nicht so ausgeprägt, doch auch diesmal zustande kommen müssen.

In jener Butter, welche 3 Proz. Salz enthielt, konnten wahrscheinlich die Milchsäure- und andere den Wohlgeschmack der Butter fördernde Bakterien sich nicht fortentwickeln, demzufolge fanden die übrigen unerwünschten Mikroorganismen einen um so günstigeren Boden zu ihrer Entwickelung und, obwohl das Kochsalz auch diese Bewohner in ihrem Wachstum hemmte, hatten sie als nunmehr alleinige Bewohner der Butter noch mehr Gelegenheit, jene Produkte zu erzeugen, welche die obenerwähnten Butterfehler zu erzeugen imstande sind.

Demzufolge ist es am zweckmäßigsten, der Butter so viel Salz beizumengen, daß die präponderierenden Milchsäurebakterien nicht absterben, sondern sich langsam

weiterentwickeln, oder aber, soll das Salz ihre Entwickelung gelinde hemmen, zugleich den Rückgang der übrigen Mikroorganismen bewirken.

Diese entsprechende Menge Kochsalz ist — wie aus den Versuchen hervorgeht — bei einer beiläufig 12 Proz. Wasser enthaltenden Butter 2,5—3 Proz.

Wenn einer wenig, z. B. 9 Proz., wasserhaltigen Butter 4 Proz. Salz beigemengt werden, so gestalten sich die Lebensbedingungen der Milchsäurebakterien so ungünstig, daß dieselben innerhalb einer Woche absterben.

Auch aus der Praxis ist es bekannt, daß der Butter am zweckmäßigsten 2—3 Proz. Salz beizumengen sind. Mehr (4—5 Proz.) Salz enthaltende Butter kann leicht einen fehlerhaften Geschmack bekommen, besonders dann, wenn sie schon ursprünglich größere Mengen solcher Bakterien in sich schließt, die ihre Haltbarkeit und ihren Geschmack beeinträchtigen.

Mehr als 5 Proz. Salz ist für die Butter entschieden nachteilig, weil die ärgsten Butterfehlererregenden Bakterien in der so versalzenen Butter zu ihrer Fortentwickelung einen sehr günstigen Boden gewinnen.

Gerne erfülle ich hier eine angenehme Pflicht, meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. H. Weigmann, für die vielen Anregungen und Ratschläge, mit denen er das Werden der Arbeit so wesentlich förderte, meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Literatur.

Krueger, Centralbl. f. Bakt. Bd. VII. 1900. p. 425. — Lafar, Arch. f. Hyg. Bd. XIII. 1900. p. 1. — Eichholz, Diss. Berlin, 1901. — Rogers, Ref. im Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903. p. 381. — Klecky, Diss. Leipzig, 1894. — Sigismund, Diss. Halle, 1893. — Schmidt, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXVIII. 1898. p. 186. — C. O. Jensen, Landwirtschaftl. Jahresber. d. Schweiz. Bd. XV. 1901. p. 329. — Loveland und Watson, Ann. Rep. Storrs. Agr. Exp. Stat. Storrs. Conn. 1894. p. 69. — Hellström, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXVIII. 1900. p. 542. — Lorenz, Diss. Dorpat, 1901. — Teichert, Bakteriologisch-chemische Studien über die Butter in der Provinz Posen. Jena 1904. — R. Gripenberg, Undersökningar öfver Mögelbildningen in lagradt smör. Helsingfors 1899; ref. in Milchztg. Bd. XXVIII. 1899. p. 626. — Kraus, Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. XXII. 1904. p. 235. — Siedel, Berl. Molkereiztg. 1904. p. 184. — Lafars Handb. der Techn. Mykologie. 1906. II, 2.

Untersuchungen über die Variation und das Stickstoffbindungsvermögen des Bacillus asterosporus A. M., ausgeführt an 27 Stämmen verschiedener Herkunft.

(Ein Beitrag zur Speciesfrage der Bakterien.)

Von **G. Bredemann,**

Assistenten am Botanischen Institut der Universität Marburg.

Mit 2 Tafeln und 3 Figuren im Text.

In nachstehender Arbeit sind die Ergebnisse der Untersuchungen mitgeteilt, welche ich als Vorstudien zu eingehenden vergleichenden Untersuchungen über die anaëroben glykogenspeichernden, bislang als Amylobacter, Granulobacter, Clostridium oder ähnlich bezeichneten Bakterien anstellte. Letztere Untersuchungen werden in einer demnächst an dieser Stelle erscheinenden Abhandlung, betitelt: „Bacillus

amylobacter A. M. et Bredemann in morphologischer, physiologischer und systematischer Beziehung, mit besonderer Berücksichtigung des Stickstoffbindungsvermögens dieser Species" zur Veröffentlichung gelangen. In einer vorläufigen Mitteilung (7) über einige Ergebnisse dieser letztgenannten Arbeit habe ich unter anderen bereits mitgeteilt, daß 16 von mir auf verschiedene Weise aus Erde der verschiedensten Weltgegenden selbst isolierte Amylobacter-Stämme und 11 zu den Untersuchungen herangezogene Originalstämme anderer Autoren, wie z. B. das Clostridium Pasteurianum, das Clostrid. Americanum, die Granulobacter butylicum und pectinovorum, der Bacillus saccharobutyricus usw., sich als identisch erwiesen haben, sowohl in morphologischer, als auch in physiologischer Beziehung, auch hinsichtlich ihres Vermögens, den elementaren Stickstoff zu binden.

Ehe ich daran ging, ein solch schwieriges Gebiet, wie es die Untersuchung der Anaëroben wegen der immerhin diffizilen Kultivierungsweise sicherlich ist, in Bearbeitung zu nehmen, war es wichtig, über den Umfang der Variationsfähigkeit einer leichter morphologisch zu charakterisierenden Species nähere Kenntnisse zu erwerben.

Auf Vorschlag meines verehrten Chefs, des Herrn Prof. Arthur Meyer, unter dessen Leitung auch diese Untersuchungen ausgeführt wurden, wählte ich hierzu den Bacillus asterosporus A. M. Diese wohlcharakterisierte Species erschien besonders gut zu dem gedachten Zwecke geeignet, einmal besitzt sie typische morphologische und physiologische Eigenschaften, ferner zeichnet sie sich durch eine ungemein große Latitude der Sauerstoffspannung, d. h. durch ein ungemein großes Intervall zwischen Minimum und Maximum der für sie brauchbaren Sauerstoffspannung aus, und endlich ist diese Species auch weit verbreitet, so daß es vorauszusehen war, daß eine Beschaffung von genügend vielen Stämmen keine Schwierigkeiten machen würde.

Im ganzen lagen zur vergleichenden Untersuchung 27 Stämme vor (s. u.). Die morphologische und physiologische Untersuchung derselben ergab, daß alle zu ein und derselben Species zu zählen waren. Selbstverständlich waren nicht alle diese Stämme absolut gleich, doch waren die Variationen der einzelnen Eigenschaften in der Species im allgemeinen nicht größer, als sie auch bei ein und demselben Stamme vorkommen. Von den näher untersuchten Punkten: Entwickelungszyklus von Spore zu Spore auf D-Agar und Asparagin-Agar, Speicherung von Reservestoffen, Verflüssigung von Gelatine, Größe und Form der Sporen, Kardinalpunkte der Sauerstoffkonzentration für Sporenkeimung, Oidienwachstum und Sporenbildung, Tötungszeit der Sporen bei 100°, Fähigkeit zur Bindung des atmosphärischen Stickstoffes und Bildung von flüchtigen Gärungsprodukten erwiesen sich alle als bei ziemlich allen Stämmen verhältnismäßig konstant, nur die Latitude der Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen Erhitzen auf 100° ist eine verhältnismäßig große, weshalb dieses Merkmal in diesem Falle zur Bestimmung dieser Species etwas unzweckmäßig ist. Konstant war auch bei allen Stämmen ausgeprägt die eigentümliche Wuchsform, die Schleimbildung, die Auflösung der Mittellamellensubstanz der Möhren, die Erzeugung eines eigentümlichen starken Aromas auf Möhren und die Verfärbung des Asparaginagars.

Ich bin mir wohl bewußt, daß diese Untersuchungen über die Variation des Bac. asterosporus noch nach den verschiedensten Richtungen hin hätten ausgedehnt werden müssen, um einigermaßen vollständig zu sein. Es hätte auch die Variationsbreite der einzelnen Stämme genau untersucht werden müssen, denn auch diese ist selbst unter ganz

gleichen Kultivierungsverhältnissen eine oft ziemlich erhebliche. Vor allem hätte auch der Versuch gemacht werden müssen, einen Stamm in den anderen überzuführen, ihm alle die Eigenschaften — konstant oder auch nicht konstant — zu verleihen, durch die er sich vom anderen unterscheidet. Nach dieser Richtung hin sind in der demnächst erscheinenden Arbeit über den Bac. amylobacter A. M. et Bred. eingehendere Versuche angestellt worden, und bei dieser Species ist es mir gelungen, alle in Händen befindliche 27 Stämme, die zum Teil bei Beginn der Untersuchungen teilweise infolge langer Kultur mehr oder weniger voneinander abwichen, durch geeignete Kultivierung einander gleich zu machen und durch stets gleichmäßige Behandlung gleich zu erhalten.

Es steht somit wohl außer Zweifel, daß die gleichen Experimente auch mit dem Bac. asterosporus durchzuführen gewesen wären, um so mehr, als die Abweichungen, welche die verschiedenen Stämme des Bac. asterosporus unter sich aufweisen, von Anfang an bei weitem nicht so erheblich waren, als die, welche bei den verschiedenen Stämmen des Bac. amylobacter beobachtet wurden.

So viel ist aber auch durch diese Untersuchungen bewiesen, daß die Artkonstanz der Bakterien eine außerordentlich große ist, eine größere jedenfalls, als man wohl vielfach angenommen hat.

Kapitel I.

I. Fangen und Reinzüchtung der verschiedenen Stämme des Bac. asterosporus [1]).

Die Isolierung der neuen Stämme geschah vorwiegend in der Weise, daß kleine Mengen Erde in sterilem Wasser verteilt und diese Aufschwemmungen eine Minute ins siedende Wasserbad gehängt wurden. Einige Tropfen dieser Abkochungen wurden auf Dextrose-Pepton-Agar (D-Agar) aufgegossen und diese Röhrchen im Vakuum bei einer Luftverdünnung, welche im Liter 1 mg Sauerstoff enthielt, bei einer Temperatur von 28° gehalten. Nach ca. 14 Tagen wurden die Röhrchen untersucht. Sobald die bekannten leistenbesetzten Sporen gefunden wurden, wurden kleine Mengen der Rohkultur in sterilem Wasser eine Minute erhitzt und mit diesem abgekochten Sporenmateriale Platten gegossen, welche wiederum bei einer Verdünnung von 1 mg Sauerstoff im Liter und bei 28° gehalten wurden. In allen Fällen, in denen bei der Durchmusterung der Rohkulturen die leistenbesetzten Sporen gefunden wurden, gelang es auch, den Bac. asterosporus in Reinkultur herauszuzüchten.

Es ist sehr leicht, den Bac. asterosporus in diesen Rohkulturen zu entdecken, weil sich diese Species durch zwei bemerkenswerte Eigenschaften: Gasbildung und typische Sporenform auszeichnet. Einige Tage nach erfolgter Impfung mit der Erde wird im Kondenswasser einiger der geimpften Röhrchen Gasbildung bemerkbar sein; nur diese Röhrchen kommen in Betracht und brauchen untersucht zu werden, man stellt sie vor der mikroskopischen Durchmusterung wieder ins Vakuum zurück, um sie erst nach ca. 14 Tagen, wenn man sicher ist, daß sich freie Sporen gebildet haben, zu untersuchen. Betrachtet man die Rohkultur vorher, so ist eine Verwechselung der noch unreifen Sporangien des Bac.

---

1) Kulturmethodisches, Zusammensetzung der Nährböden etc. siehe Arth. Meyer, Praktikum der botanischen Bakterienkunde. Jena (Gustav Fischer) 1903; ferner Arth. Meyer, Apparat für die Kultur von anaëroben Bakterien etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XV. 1905. No. 10/11); Arth. Meyer, Apparat für die Kultur von Bakterien bei hohen Sauerstoffkonzentrationen etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XVI. 1906. p. 386); ferner sei auf das Kap. II „Methodisches“ meiner demnächst erscheinenden Abhandlung über den Bac. amylobacter verwiesen.

asterosporus mit den sehr häufig gleichzeitig vorhandenen Sporangien des Bac. amylobacter A. M. et Bred. möglich, während die leistenbesetzten Sporen des Bac. asterosporus von den meist noch von den Resten der Sporangienmembran umgebenen Sporen des Bac. amylobacter leicht zu unterscheiden sind.

Im übrigen ist das Auffinden der Bac. asterosporus-Sporen, auch wenn in der Rohkultur sehr verschiedene Arten entstanden sind, nicht schwierig, weil unter den genannten anaëroben Verhältnissen der Bac. asterosporus die übrigen Arten mit Ausnahme des Bac. amylobacter A. M. et Bred., bald überwuchert. Es empfiehlt sich deshalb auch nicht, die mit der abgekochten Erde-Aufschwemmung geimpften Röhrchen aërob zu halten, weil sich dann eine Unmenge von verschiedenen aëroben Arten entwickelt, aus denen der Bac. asterosporus oft nur schwierig herauszufinden ist.

Bei den anaërob gehaltenen Rohkulturen deutete außer der Gasbildung auch ein meist typisch gleichartig aussehender Agarbelag auf die Anwesenheit des Bac. asterosporus hin, es entstanden dann nach einigen Tagen am oberen Teile des Agarbelages fast stets ganz charakteristische fingerartig sich vom übrigen Belage herausstreckende, wenig verästelte wurmartig gekrümmte und an den Enden keulig verdickte und dort hoch aufliegende Fortsätze von glänzendem Aussehen und schleimiger Beschaffenheit, die bisweilen an einigen Stellen an der Oberfläche schmutzig purpurrot gefärbt waren.

Die Reinzüchtung geschah, wie erwähnt, mittels Platten, welche bei einer Sauerstoffkonzentration von 1 mg im Liter gehalten wurden. Auf den Platten erscheinen die Kolonieen des Bac. asterosporus bald als zuerst scharf begrenzte, meist hochaufliegende, weiche, schleimige, weiße Halbkugeln, die sich bald in der typischen fingerartigen Verzweigung über die Oberfläche der Platte nach allen Seiten ausbreiten[1]).

In einigen Fällen wurde der Bac. asterosporus zufällig auch in der Weise gefangen, daß 1 bis 2 g Erde in annähernd 8 cm hoch mit stickstofffreier Winogradskyscher Nährlösung beschickte Reagenzröhrchen eingeimpft wurden, welche, nachdem sie eine Minute lang ins siedende Wasserbad gehängt waren, aërob bei 28° gehalten wurden. Bei dieser letzteren Versuchsanordnung kam es mir speziell darauf an, das Vorkommen des Bac. amylobacter A. M. et Bred. in den verschiedenen Böden zu untersuchen. Nach 1 bis 2 Tagen war in den Nährlösungen fast stets lebhafte Gärung im Gange, meist hervorgerufen durch den Bac. amylobacter, der mikroskopisch auch das Gesichtsfeld beherrschte, bisweilen war neben diesem auch der Bac. asterosporus vorhanden, der allerdings, da in stickstofffreier Nährlösung die Sporangien sehr langsam zur Reife gelangen und so mit denen des Bac. amylobacter leicht zu verwechseln waren, und da auch nicht weiter auf das Vorkommen des Bac. asterosporus in diesen Rohkulturen gefahndet wurde, mikroskopisch immer übersehen worden war, der aber bei dem Bemühen, den Bac. amylobacter in Reinkultur zu erhalten, auf den Platten erschien. Auf diese Weise wurden die Stämme 84 von einem Termitenhaufen bei Kotapad (Ostindien), 128 aus Heideland bei Zeven und 131 aus Sandboden bei Paramaribo (Surinam) isoliert.

Es darf wohl als auffällig bezeichnet werden, daß in den auf die beschriebenen Weisen vorbehandelten gärenden Mischkulturen niemals

1) Hübsche Abbildungen dieser typischen Wuchsform finden sich bei Gruber (12) in der Beschreibung des „Clostridium Polymyxa", welches sich nach meinen Untersuchungen als identisch mit dem Bac. asterosporus herausgestellt hat.

eine andere gasbildende Art vorkam, als Bac. amylobacter und Bac. asterosporus. Im ganzen habe ich 138 Erdproben verschiedener Herkunft aus den verschiedensten Ländern und Breitengraden untersucht. 58 Proben wurden auf die erstgenannte Art — anschütteln mit Wasser, erhitzen und impfen auf D-Agar — behandelt, hierbei wurde 28mal der Bac. asterosporus und 14mal der Bac. amylobacter A. M. et Bred. gefunden[1]), in 3 von diesen Fällen kamen beide Species zusammen vor. Die übrigen 80 Proben wurden auf die letztgenannte Art — in stickstofffreier Winogradskyscher Nährlösung — untersucht, dabei wurde 78mal der Bac. amylobacter und 3mal neben demselben der Bac. asterosporus gefunden. Da es mir, wie gesagt, bei den Versuchen in stickstofffreier Nährlösung speziell auf den Nachweis des Bac. amylobacter ankam, ist es wahrscheinlich, daß in ihnen der Bac. asterosporus oft übersehen wurde.

Wenn es mir gelungen war, aus einer Erde den Bac. asterosporus auf die beschriebene Weise zu züchten, habe ich mich anfangs nie damit begnügt, mich mit dem einen Befund zufrieden zu geben, sondern ich habe dieselbe Erde noch ein zweites und oft auch noch ein drittes Mal untersucht, und zwar wurde die Kultur dann immer sowohl anaërob als aërob angesetzt, in allen Fällen fand ich den Bac. asterosporus wieder.

II. Vorkommen und Verbreitung des Bac. asterosporus.

Folgende 58 Erden[2]) wurden in der erstgenannten Weise — Anschütteln mit Wasser, erhitzen, impfen auf D-Agar und kultivieren bei einem Sauerstoffgehalt von 1 mg im Liter — auf das Vorhandensein des Bac. asterosporus hin untersucht. Diejenigen Erdproben, in denen er gefunden wurde, sind durch fettgedruckte Nummern bezeichnet.

1. Erdprobe No.	**1.**	Erde von der großen Straßen in Buitenzorg auf Java. 1. Aug. 1905.
2. „ „	17.	Erde von der Oberfläche einer Reispflanzung bei Buitenzorg vor dem Ackern entnommen.
3. „ „	23.	Seesand von Pangkal-Balem, Insel Bangka.
4. „ „	32.	Erde von der Oberfläche einer Tabakpflanzung Wedi (Klaten), Java.
5. „ „	**40.**	Sonnendurchwärmter Seesand, dicht am Ufer von der Oberfläche entnommen. Wyk a. Föhr. 15. Juli 1905.
6. „ „	**41.**	Kiefernwalderde bei Pritzwalk, Brandenburg.
7. „ „	**42.**	Gartenerde aus Nortorf in Holstein, ca. 50 cm tief entnommen. 20. Sept. 1905.
8. „ „	45.	Trockener Torf vom Bargstedter Moor bei Nortorf in Holstein.
9. „ „	46.	Erde aus einem seit 3 Jahren unter Kultur befindlichen, jetzt mit Akazien bewachsenen Lande bei Amani, Deutsch-Ostafrika.
10. „ „	49.	Urwalderde bei Amani.
11. „ „	**51.**	Aus einem ausgetrockneten Teiche bei Kotapad, Vizagapatam-Distrikt, Ostindien.
12. „ „	54.	Wiesenboden bei Pritzwalk, Brandenburg.
13. „ „	**55.**	Wiesenboden bei Hüttenberge, durch Rauchgase stark mit Kupfer vergiftet. (0,058 Proz. CuO, wasserlöslich 0,0246 Proz. CuO, 0,0036 Proz. $PbSO^4$.)
14. „ „	56.	Erde aus einer jungen Kakaopflanzung bei Sappo im Kamerungebirge. 20. Sept. 1905.
15. „ „	57.	Erde aus einer jungen Kakaopflanzung bei Moliwe im Kamerungebirge. 21. Sept. 1905.

1) 34 der Erden, in denen der Bac. amylobacter auf diese Weise nicht gefunden wurde, wurden dann nochmals in stickstofffreier Winogradskyscher Nährlösung untersucht, nur in 6 der Proben wurde er auf diese Weise nicht festgestellt, in den übrigen 28 war er vorhanden.

2) Das gesamte Verzeichnis aller 138 untersuchten Erdproben wird in der Arbeit über den Bac. amylobacter mitgeteilt werden, es wird in demselben neben dem Vorkommen des letzteren auch das Vorkommen des Bac. asterosporus nochmals angegeben sein.

16. Erdprobe No. **58.** Erde aus einem Bananenfeld bei Orotava, Teneriffa. 19. Okt. 1905.
17. „ „ 59. Buchenwalderde unter einer Moosschicht 2—3 cm tief entnommen. Marburg. 1. Juni 1905.
18. „ „ **60.** Erde aus einem mit der Hirseart Kauliang bepflanzte Chinesenacker bei Taitung-tschen, Tsingtau.
19. „ „ 61. Fichtenwalderde vom Frauenberg bei Marburg. 2—3 cm tief entnommen. 28. Aug. 1905.
20. „ „ **62.** Grasbewachsene Erde unter Kokospalmen, Apia, Samoa. 25. Juni 1905.
21. „ „ 63. Feuchter Seesand vom Strande bei Möltenort-Kiel. Aug. 1905.
22. „ „ 64. Schlickboden bei Husum. Bei Flut von Wasser bedeckt, bei Ebbe trocken liegend. Aug. 1905.
23. „ „ **66.** Lehmboden von einem Acker des Ritterguts Aue bei Cassel.
24. „ „ 68. Urwalderde aus Amani, Deutsch-Ostafrika. Sept. 1905.
25. „ „ 69. Erde vom Ufer eines Baches bei Amani. Sept. 1905.
26. „ „ 70. Erde aus einem Reisfelde bei Kotapad, Brit.-Ostindien.
27. „ „ 71. Erde vom Ufer eines stehenden Gewässers aus demselben Orte.
28. „ „ **72.** Erde aus dem botanischen Garten zu Marburg.
29. „ „ **73.** Erde von einem Acker des Gutes Buchholz bei Pritzwalk, Brandenburg. 1903 mit Rotklee, 1904 Weide, 1905, zur Zeit der Entnahme der Erde, mit Roggen bestellt. Juli 1905.
30. „ „ **75.** Von einem anderen Felde desselben Gutes, 1903 Anthyllis vulneraria, 1904 Weide, 1905 Anthyllis vulneraria. Juli 1905.
31. „ „ 76. Aus einem Weideland bei Illinois, U. S. A.
32. „ „ **77.** Aus einem Maisfelde Illinois, U. S. A.
33. „ „ **78.** Erde von einem Acker des Gutes Buchholz (s. No. 73 und 75). 1903 Hafer, 1904 Rotklee, 1905 Weide. (Juli 1905.)
34. „ „ **79.** Von einem anderen Felde desselben Gutes. 1903 Hackfrucht, 1904 Hafer, 1905 Luzerne. Juli 1905.
35. „ „ 80. Marschboden aus dem Dockkoog bei Husum.
36. „ „ 81. Gartenerde aus Nieblum a. Föhr. Juli 1905.
37. „ „ 82. Aus einem Mangohain bei Kotapad, Ostindien.
38. „ „ **83.** Möhren aus Marburg. Dez. 1905.
39. „ „ **84.** Von einem Termitenhaufen bei Kotapad, Ostindien.
40. „ „ 85. Aus dem Jungle unter Shorea robusta, Ostindien.
41. „ „ **86.** Aus einem Batatengarten, Samoa.
42. „ „ **88.** Staub einer Landstraße bei Marburg. Mai 1905.
43. „ „ **90.** Erde von Alassio bei Genua.
44. „ „ 91. Feuchter Seesand vom Strande bei Stein-Kiel. Aug. 1905.
45. „ „ 92. Erde unter einem dichten Bestande von Robinia pseudacacia an den Hängen des Signalberges bei Tsingtau, Kiautschau.
46. „ „ 114. Schlamm aus dem Kieler Hafen, nahe dem Ufer entnommen.
47. „ „ 115. Ebenso, aus der Fahrrinne zwischen Friedrichsort und Laboe.
48. „ „ **116.** Schwarzerde aus Abda in Marokko.
49. „ „ **118.** Von einem unkultivierten Lande bei Hammerfest in Norwegen.
50. „ „ **119.** Von einem Acker aus demselben Orte.
51. „ „ 121. Von einem Weideboden ebendort.
52. „ „ **122.** Erde, auf welcher ein japanisches Wohnhaus gebaut ist. Tokio, Japan, ca. 20 cm tief. Juni 1906.
53. „ „ **123.** Aus einem Walde von Cryptomeria japonica, ca. 20 cm tief. Tokio. Juni 1906.
54. „ „ 124. Aus einem Reisfelde bei Tokio, ca. 20 cm tief. Juni 1906.
55. „ „ 125. Erde aus einem Teiche bei Tokio, Japan, ca. 20 cm tief. Juni 1906.
56. „ „ **126.** Erde aus dem botanischen Garten der Universität Tokio, ca. 20 cm tief. Juni 1906.
57. „ „ **135.** Gartenerde aus Moskau.
58. „ „ **138.** Laubwalderde aus Moskau.

Außerdem wurde der Bac. asterosporus in stickstofffreier Nährlösung neben dem Bac. amylobacter noch gefunden in den Erdproben

60. Erdprobe No. **128.** Erde ca. 10 cm tief aus der Heide bei Zeven (Hannover). Sept. 1906.
61. „ „ **131.** Mit Pferdemist gedüngter Sandboden aus dem botanischen Garten in Paramaribo (Surinam).

Auch in der Erdprobe 84 (s. oben) kam er neben dem Bac. amylobacter in stickstofffreier Nährlösung zur Entwickelung.

Der Bac. asterosporus ist somit ein Kosmopolit in des Wortes reinster Bedeutung, und es ist durch diese Untersuchungen über das Vorkommen und die Verbreitung des Bac. asterosporus ein weiterer Beweis dafür erbracht, daß eine Bakterienspecies über die ganze Erde gleichmäßig verbreitet sein kann, wie ich es auch für den Bac. amylobacter A. M. et Bredemann nachgewiesen habe (7). Ebenso wie bei letzterer Species ist auch beim Bac. asterosporus die Variationsfähigkeit nicht größer, als die höherer Pflanzenspecies, vielleicht sogar geringer. Es ist interessant, daß ein wesentlicher Einfluß auch auf diese Bakterienspecies durch die verschiedenen Standorte nicht ausgeübt ist. Die ganz allgemeine Verbreitung des Bac. asterosporus über die ganze Erde ist gleichzeitig eine weitere Stütze für die in Hinsicht auf die gleiche allgemeine Verbreitung des Bac. amylobacter bereits von mir ausgesprochene Vermutung (7), daß es zu erwarten sei, daß die Bakterienflora der verschiedenen Gegenden doch nicht eine solch große Mannigfaltigkeit aufzuweisen scheine, als man vielleicht anzunehmen geneigt sein könnte, allerdings muß man hier beim Bac. asterosporus beachten, daß diese Species vornehmlich von Kulturböden gesammelt wurde.

Man darf wohl sicher annehmen, daß außer den genannten beiden Bakterienspecies noch andere ganz allgemein über die ganze Erde vertreten sind. Bei meinen Untersuchungen über die Verbreitung des Bac. amylobacter habe ich in stickstofffreier Nährlösung fast stets mit ihm vergesellschaftet ein dünnes Stäbchen gefunden, welches in endständigen Anschwellungen Sporen bildet und etwas Glykogen speichert, und welches alle anderen Autoren, die über die „stickstoffsammelnden Clostridien“ gearbeitet haben, ebenfalls beobachteten.

Was das Vorkommen des Bac. asterosporus in den verschiedenen Erdböden anbelangt, so scheint es nach obiger Zusammenstellung der untersuchten Erden, als ob er im Gegensatz zum Bac. amylobacter A. M. et Bred. eine wesentlich an den Kulturboden gebundene Pflanze sei, die wir vielleicht als eine von den Menschen über die Erde verschleppte Form betrachten müssen. Er fehlte z. B. meist in Seesand, Schlick und Walderde, fand sich dagegen fast regelmäßig auf gedüngtem Acker- oder Gartenland oder in dessen Nähe.

Auch andere Autoren haben den Bac. asterosporus häufig gefunden, so Gottheil (11), welcher ihn sehr häufig in Ackererde und im botanischen Garten zu Marburg fand; Ankersmit (2) fand im Verdauungskanal von Rindern häufig einen Pektinvergärer, den er durch Vergleich mit einer Originalkultur des Bac. asterosporus mit dieser Species identifizierte, seine aus verschiedenen Tieren gezüchteten Stämme erwiesen sich hinsichtlich ihrer Wuchsform und der Gasbildung als völlig identisch. Behrens (3) wies seine Mitwirkung bei der Flachsrotte nach, bei welcher er wegen seiner Fähigkeit zur Lösung der Mittellamellensubstanz wahrscheinlich eine hervorragende Rolle spielt. Aderhold (1) und auch Haselhoff und Bredemann (14) fanden ihn an der Zersetzung von Gemüsekonserven beteiligt.

III. Zur Untersuchung benutzte Reinkulturen.

Von den 30 Fällen, in denen in den Rohkulturen die Anwesenheit des Bac. asterosporus durch die Gasbildung und die eigentümlichen charakteristischen Sporen wahrscheinlich gemacht worden war, wurden in 22 Fällen Reinkulturen hergestellt. Wenn in den übrigen 8 Fällen lediglich auf den makroskopischen und mikroskopischen Befund hin auf die Anwesenheit des Bac. asterosporus geschlossen wurde, so durfte ich

hierzu wohl einigermaßen berechtigt sein, nachdem ich gefunden hatte, daß in 22 Fällen, in denen das gleiche makro- und mikroskopische Bild vorlag, die gewonnenen Reinkulturen stets Bac. asterosporus waren. Diese 22 reingezüchteten Stämme sind die folgenden, sie werden fortan der Kürze halber mit ihrer Nummer als Stamm 77, Stamm 126 etc. bezeichnet werden.

1. Stamm 1. Aus Erde von der großen Straße in Buitenzorg auf Java.
2. „ 40. Aus sonnendurchwärmtem Seesand von Wyk a. Föhr, dicht am Ufer der Oberfläche entnommen.
3. „ 42. Aus Gartenerde aus Nortorf i. Holstein.
4. „ 58. Aus der Erde eines Bananenfeldes bei Orotava, Teneriffa.
5. „ 60. Aus einem mit der Hirseart „Kauliang“ bepflanzten Chinesenacker bei Taitung-tschen, Kiautschou.
6. „ 62. Aus grasbewachsener Erde unter Kokospalmen bei Apia, Samoa.
7. „ 66. Aus Lehmboden (Ackerland) des Gutes Aue bei Cassel.
8. „ 73. Aus einem Acker des Gutes Buchholz bei Pritzwalk (Brandenburg), der 1903 Rotklee getragen hatte, 1904 als Weide gedient hatte und 1905, zur Zeit der Entnahme der Probe, mit Roggen bestellt war.
9. „ 75. Aus einem anderen Acker desselben Gutes (1903 Anthyllis vulneraria, 1904 Weide, 1905 Anthyllis vulneraria).
10. „ 77. Aus einem Maisfelde von Illinois, Nordamerika.
11. „ 83. Von Möhren (Daucus carota) aus Marburg isoliert.
12. „ 84. Aus Erde eines Termitenhaufens bei Kotapad, Brit.-Ostindien.
13. „ 86. Aus Erde eines Botatengartens bei Apia, Samoa.
14. „ 88. Aus Straßenstaub einer Landstraße bei Marburg.
15. „ 90. Aus Ackererde bei Alassio, Genua.
16. „ 116. Aus Schwarzerde von Abda, Marokko.
17. „ 119. Aus Erde eines Ackers bei Hammerfest, Norwegen.
18. „ 122. Aus Erde, auf der ein Wohnhaus gebaut ist. Tokio, Japan.
19. „ 123. Aus Walderde (Cryptomeria japonica). Tokio, Japan.
20. „ 126. Aus Erde des botanischen Gartens in Tokio, Japan.
21. „ 128. Aus Erde der Heide bei Zeven, Hannover.
22. „ 131. Aus gedüngtem Sandboden des botanischen Gartens in Paramaribo, Surinam.

Außer diesen selbst isolierten Stämmen stand mir noch die Originalkultur des Bac. asterosporus zur Verfügung, welche Herr Prof. Arth. Meyer 1897 aus Möhre isoliert hatte und die seinen „Studien über die Morphologie und Entwickelungsgeschichte der Bakterien“ (17), sowie den übrigen hier im Institute ausgeführten Untersuchungen von Gottheil (11), Neide (23), Blau (6), Wund (24) und Garbowski (9) zugrunde gelegen hatte. Dieser Stamm war seit jener Zeit fortgesetzt auf D-Agar unter jedesmaliger vorheriger Abkochung der Sporen fortgezüchtet worden. Außer diesem Originalstamm habe ich noch die drei von Haselhoff und mir (14) aus verdorbenen Gemüsekonserven isolierten unter sich und mit dem Bac. asterosporus große Aehnlichkeit aufweisenden Bakterien, welche wir damals Bac. asterosporus α, Bac. clostridioides und Bac. dilaboides benannt hatten, und endlich einen ebenfalls mit dem Bac. asterosporus große Aehnlichkeit zeigenden von Gruber (12) als Clostridium Polymyxa beschriebenen Bacillus[1]) mit zu meinen vergleichenden Untersuchungen herangezogen und unter Berücksichtigung der Variationsbreite des Bac. asterosporus gefunden, daß alle diese Arten zur Species Bac. asterosporus gehören.

Diese 5 Originalkulturen werden im folgenden bezeichnet werden als
Stamm A = Originalkultur von Arth. Meyer,
„ B = „Bac. asterosporus α“ Haselhoff et Bredemann,

1) Die Originalkultur, welche der Gruberschen Beschreibung des Clostridium Polymyxa zugrunde gelegen hat, war dem Direktor der hiesigen Landwirtschaftlichen Versuchsstation, Herrn Prof. Haselhoff, von Herrn Prof. Weigmann

Stamm C = „Bac. clostridioides“ Haselhoff et Bredemann,
„ D = „Bac. dilaboides“ Haselhoff et Bredemann,
„ E = „Clostridium Polymyxa“ Stamm Gruber.

Im ganzen wurden demnach 27 Stämme verschiedener Herkunft morphologisch und physiologisch miteinander verglichen und so die Variationsbreite des Bac. asterosporus festgestellt.

IV. Art der Weiterzüchtung aller Stämme.

Bevor zu einem Vergleiche der verschiedenen Stämme untereinander geschritten wurde, wurden sie alle erst eine genügend lange Zeit vorkultiviert, indem die frisch erhaltenen Reinkulturen nach erfolgter Sporenbildung möglichst oft auf neuen Agar übergeimpft wurden, jedesmal nach vorherigem 1 Minute langen Erhitzen auf 100°. Diese Vorkultivierung geschah bei allen Stämmen in sehr gleichmäßiger Weise mindestens 8 Wochen hindurch. Das Prinzip, Speciesdiagnosen und Bestimmungen von Bakterienspecies nur mit einem solchen Materiale auszuführen, welches längere Zeit hindurch unter bestimmten Kulturbedingungen gehalten und durch Einwirkung gleicher Kulturverhältnisse möglichst gleichartig gemacht worden war, ist bei allen bisher im botanischen Institute ausgeführten Arbeiten über Bakterien stets durchgeführt worden. Wie außerordentlich wichtig eine solche Vorbehandlung ist, erhellt in sehr auffälliger Weise aus meinen Untersuchungen über den Bac. amylobacter, bei dem es einer sehr lange fortgesetzten Vorbehandlung bedurfte, um die frisch isolierten Stämme gleichartig zu gestalten, und bei welcher Species das Unterlassen einer solchen gleichartigen Vorbehandlung an den zur vergleichenden Untersuchung mit herangezogenen Originalkulturen anderer Autoren sehr schön daran bemerkt werden konnte, daß diese letzteren zum Teil seit Jahren in — naturgemäß verschiedenartiger — Kultur befindlichen Stämme bei Erhalt so verändert, teilweise geschwächt waren, daß es einer vorherigen besonderen Behandlung bedurfte, um die Normaleigenschaften wiederherzustellen. So empfindlich wie der Bac. amylobacter ist der Bac. asterosporus nicht. Schon die frisch isolierten Reinkulturen führten ihren Entwickelungszyklus von Spore zu Spore glatt durch, ohne daß in der Schnelligkeit desselben im Laufe der Vorkultivierung eine bemerkliche Aenderung eintrat. Trotzdem wurden alle Stämme vor ihrer Vergleichung mindestens 8 Wochen lang vorkultiviert. Diese Vorkultivierung geschah auf D-Agar, und zwar unter gewöhnlichen aëroben Verhältnissen bei 28°, während, wie erwähnt, die Roh- und Reinkulturen bei einem Sauerstoffgehalt von 1 mg im Liter erhalten waren. Anfänglich wurden die Reinkulturen vergleichsweise anaërob und aërob gehalten, da sich jedoch bei beiden Kulturmethoden kein Unterschied nach irgend welcher Richtung hin feststellen ließ, wurde das anaërobe Kultivierungsverfahren ganz aufgegeben und die Kulturen alle bei gewöhnlichem Sauerstoffzutritt gehalten.

Kapitel II.

Vergleich der neu isolierten Stämme des Bac. asterosporus untereinander und mit den Originalkulturen anderer Autoren.

Den Bac. asterosporus A. M. dürfen wir als bekannt voraussetzen, seine Morphologie und Entwickelungsgeschichte ist zuerst von Arth. Meyer (16, 17, 18) eingehend untersucht und beschrieben worden, welche Beschreibung später ergänzt und erweitert wurde durch Migula (22) (Geißeln) und durch die aus dem hiesigen botanischen Institute hervorgegangenen Arbeiten von Gottheil (11) und Neide (23)

(Reservestoffe), Blau (6) (Temperaturmaxima), Wund (25) (Kardinalpunkte der Sauerstoffkonzentration) und Garbowski (9) (Chemie der Membran).

Zur Orientierung sei die dem Praktikum der botanischen Bakterienkunde von Arth. Meyer entnommene Abbildung der Sporenentwickelung im Sporangium des Bac. asterosporus, welche gleichzeitig die häufigsten Formen der Sporangien etc. dieser Species illustriert, hier wiedergegeben.

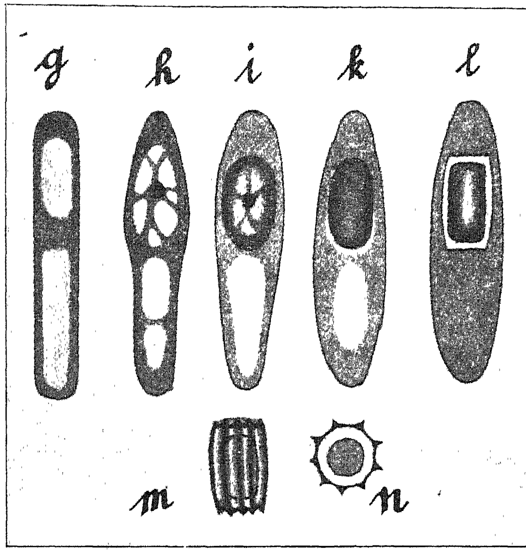


Fig. 1. Bacillus asterosporus. Sporenentwickelung im Sporangium. *g* Anfangsstadium, *l* Endstadium, *m* freie Spore mit leistenbesetzter Exine[1]), *n* optischer Querschnitt der Spore.

I. Vergleichende Untersuchungen über die Entwickelung der verschiedenen Stämme auf festen Nährböden.

a) Vergleich des Entwickelungsganges auf D-Agar und auf Asparagin-Agar.

Um die Herstellung eines Nährbodens von stets gleicher Zusammensetzung zu ermöglichen, suchte ich Fleischextrakt und Pepton auszuschalten und nur chemisch reine, genau definierte Nährstoffe zu verwerten. Wenn auch bei der nie gleichmäßigen Beschaffenheit des Agars die Gleichmäßigkeit des Nährbodens stets nur eine relative sein wird, so wird die Zusammensetzung doch von möglichst weitgehender Konstanz sein. Ich benutzte zu den meisten vergleichenden Versuchen einen „Asparagin-Agar“ folgender Zusammensetzung:

10,0 g Asparagin,
20,0 „ Rohrzucker,
1000 ccm Leitungswasser,
16,0 g Agar, welcher 8 Tage lang täglich 2 Stunden in fließendem Leitungswasser gewässert war

wurden gelöst, filtriert und dann wurde zugefügt

1 g KH_2PO4
0,1 „ $CaCl_2$
0,3 „ $MgSO_4$
0,1 „ NaCl
0,01 „ Fe_2Cl_6

Nach eventueller Neutralisation mit Natriumkarbonat wurde dreimal ein Dampftopf sterilisiert und der etwas opaleszierende Nährboden abgefüllt.

1) Die Leisten sind, was auf der Abbildung nicht gezeichnet ist, ihrerseits wieder mit kleinen Zäckchen versehen, die, besonders bei größeren Sporen gut sichtbar, seitlich über den Rand der Spore hinüberragen.

Es soll nicht gesagt sein, daß dieser Asparagin-Agar nicht durch einen für Bac. asterosporus noch besser geeigneten von eventuell anderer Zusammensetzuug hätte ersetzt werden können. Da es jedoch lediglich darauf ankam, einen gut definierten Nährboden zu verwenden und da der Bac. asterosporus auf dem genannten ein äußerst üppiges Wachstum und einen regelmäßigen Entwickelungszyklus von Spore zu Spore zeigt, habe ich Versuche mit anderen Nährböden nicht angestellt.

Da es interessant erschien, zu entscheiden, ob ein wesentlicher Unterschied im Entwickelungszyklus von Spore zu Spore bei Verwendung von D-Agar oder von Asparagin-Agar zu bemerken sei und ob ein eventuell verhandener Unterschied bei allen Stämmen gleichsinnig hervortrat, wurden diesbezügliche Versuche mit einigen Stämmen angestellt.

Als Ausgangsmaterial dienten stets eine Minute auf 100° erhitzte Sporen; daß für die jeweiligen Parallelreihen stets gleiches Ausgangsmaterial verwendet wurde und auch die übrigen Versuchsbedingungen genau die gleichen waren, braucht wohl kaum erwähnt zu werden.

Folgendes sind die Beobachtungen (Temperatur 28°).

I. Stamm A (B. asterosporus, Originalstamm).

Nach 20 Std. D-Agar: Stäbe, Schwärmer und noch ungekeimte Sporen.
Asparag.-Agar: Vorwiegend ungekeimte Sporen, vereinzelte Schwärmer.

Nach 48 Std. D-Agar: Dünne weiße Kolonie, Kondenswasser schleimig getrübt. Meist Ruheoidien mit geringer Glykogenspeicherung, vereinzelt noch Schwärmer.
Asparag.-Agar: Makroskopisch ebenso, mikroskopisch vorwiegend Schwärmer, kein Glykogen.

Nach 75 Std. D-Agar: Aeußerlich ziemlich unverändert, meist Ruheoidien, einige zur Sporangienbildung etwas geschwollen.
Asparag.-Agar: Kultur dick, fett, glänzend, weiß, stark zähschleimig und dem Agar fest anliegend. Kondenswasser schleimig getrübt. Nur Ruheoidien ohne Glykogen.

Nach 5 Tgn. D-Agar: Kultur äußerlich unverändert, recht dünn und kümmerlich; reichlich Oidien, daneben Sporangien mit Glykogen; auch Fäden beobachtet.
Asparag.-Agar: Kultur äußerlich ziemlich unverändert, sehr kräftig. Oidien, Sporangien mit reichlich Glykogen und zur Sporangienbildung anschwellende Stäbe.

Nach 6 Tgn. D-Agar: Kultur wird kräftiger, glänzend, weich, schleimig. Alle Morphoden, freie Sporen reichlich, an den freien Sporen Leisten und Zacken undeutlich zu erkennen.
Asparag.-Agar: Kultur äußerlich unverändert, sehr kräftig, weich, schleimig, glänzend, nicht mehr zähe. Alle Morphoden, freie Sporen mit deutlicher ausgebildeten Leisten und Zacken als auf D-Agar.

II. Stamm 1 (Buitenzorg).

Nach 20 Std. D-Agar: Meist ungekeimte Sporen, einzelne Schwärmer.
Asparag.-Agar: Ebenso.

Nach 48 Std. D-Agar: Dünner, weißer, schleimiger Belag, vorwiegend lebhafte Schwärmer, einige Ruheoidien, Glykogen noch nicht vorhanden.
Asparag.-Agar: Ganz dünner, kaum sichtbarer Belag. Noch relativ viele ungekeimte Sporen, daneben Schwärmer, Glykogen noch nicht vorhanden.

Nach 75 Std. D-Agar: Kultur dicker, glänzend, sehr schleimig, gelblichweiß. Nur Ruheoidien.
Asparag.-Agar: Kultur dick, glänzend, sehr zähschleimig, dem Agar fest anhaftend, weiß. Mikroskopisch genau so wie bei D-Agar.

Nach 5 Tgn. D-Agar: Kultur äußerlich unverändert; vorwiegend Sporen, vereinzelte Sporangien und Oidien.
Asparag.-Agar: Kultur sehr kräftig, sonst äußerlich unverändert; vorwiegend Sporangien und bauchig angeschwollene Stäbe, freie Sporen ganz vereinzelt.

Nach 6 Tgn. D-Agar: Unverändert, Sporen mit undeutlich sichtbaren Leisten und Zacken.
Asparag.-Agar: Aeußerlich unverändert, viele Sporangien und freie Sporen, auch noch Oidien vorhanden. Leisten und Zacken deutlicher ausge-

bildet. Nach 4 Wochen bildet die Asparagin-Agarkultur einen sehr kräftigen, hochaufliegenden kleisterartigen Belag, der jetzt nur noch wenig schleimig ist. Der Agar ist bräunlich gefärbt.

III. Stamm 58 (Teneriffa).

Nach 24 Std. D-Agar: Ganz dünner, farbloser Belag, neben ungekeimten Sporen reichliche Schwärmer.

Asparag.-Agar: Ebenso, ungekeimte Sporen noch sehr reichlich vertreten.

Nach 48 Std. D-Agar: Kräftige, glänzende, schleimige Kultur mit fingerig verästeltem Rand. Oidien und Sporangien.

Asparag.-Agar: Matte, körnige, wenig kräftige Kultur. Oidien und Sporangien.

Nach 6 Tgn. D-Agar: Homogene, bräunliche, nicht mehr schleimige Kultur. Nur Sporen mit deutlich sichtbaren Leisten und Zacken.

Asparag.-Agar: Sehr kräftige, warzige, kleisterartig weiße Kultur. Vorwiegend Sporen mit deutlichen Leisten und Zacken, seltener Sporangien und Stäbe. Nach 14 Tagen beginnt der Asparagin-Agar sich brännlich zu färben.

IV. Stamm 60 (Kiautschou).

Nach 24 Std. D-Agar: Ganz dünne Kultur, am Rande verästelt. Neben einzelnen ungekeimten Sporen sehr lebhafte Schwärmer.

Asparag.-Agar: Aeußerlich kein Wachstum sichtbar, meist ungekeimte Sporen, einige lebhafte Schwärmer.

Nach 48 Std. D-Agar: Ziemlich kräftige, glänzende, weißlichgelbe, sehr schleimige Kultur, am Rande typisch verästelt; meist Stäbe, vereinzelt auch reife Sporangien.

Asparag.-Agar: Dünner, in der Nähe des Kondenswassers kräftiger Belag, matt, körnig, durchsichtig, vorwiegend Stäbe, ganz vereinzelt Sporangien.

Nach 6 Tgn. D-Agar: Aeußerlich ziemlich unverändert, Sporen mit deutlichen Leisten und Zacken.

Asparag.-Agar: Hochaufliegende, kräftige, etwas warzige, kleisterartige Kultur, neben freien Sporen noch alle anderen Morphoden. Nach 14 Tagen beginnt der Asparagin-Agar sich braun zu färben.

V. Stamm 62 (Samoa).

Nach 20 Std. D-Agar: Vorwiegend Schwärmer, vereinzelt noch ungekeimte Sporen.

Asparag.-Agar: Vorwiegend ungekeimte Sporen, sonst Schwärmer.

Nach 48 Std. D-Agar: Dünne, homogene, mattglänzende, weißliche Kolonieen, Schwärmer und Ruheoidien.

Asparag.-Agar: Sehr kräftige, körnige, zum Teil gefaltete, dem Agar fest aufsitzende, kleisterartige, durchsichtige Kolonie, sie besteht aus zur Sporangienbildung angeschwollenen Stäben, fertigen Sporangien und vereinzelten Stäben.

Nach 75 Std. D-Agar: Dicke, saftige, fettig aussehende, schleimige, gelblichweiße Kolonie. Alle Morphoden, freie Sporen mit sehr gut sichtbaren Leisten und Zacken.

Asparag.-Agar: Kolonie außerordentlich kräftig geworden, sonst äußerlich unverändert. Alle Morphoden, besonders viele bauchige Sporangien, auch freie Sporen.

Nach 5 Tgn. D-Agar: Kultur äußerlich unverändert, fast ausschließlich Sporen.

Asparag.-Agar: Kultur insofern verändert, als sie jetzt nicht mehr körnig, sondern stark glänzend, hochaufliegend, nicht mehr gefaltet, undurchsichtig weiß ist, weich, schleimig, von Agar leicht abnehmbar. Sie besteht vorwiegend aus Sporangien, auch freie Sporen reichlich vorhanden. Nach 6 Tagen beginnt der Agar sich bräunlich zu färben.

VI. Stamm 75 (Brandenburg).

Nach 20 Std. D-Agar: Dünne, glasige Kultur, neben ungekeimten Sporen viele lebhafte Schwärmer.

Asparag.-Agar: Ebenso.

Nach 48 Std. D-Agar: Dickere Kultur am Rande mit den typischen Verästelungen, mattglänzend. Vorwiegend Oidien, vereinzelte Sporangien.

Asparag.-Agar: Kultur kräftig, körnig, kleisterartig, matt. Viele Sporangien und Stäbe.

Nach 6 Tgn. D-Agar: Aeußerlich unverändert, nur Sporen.

Asparag.-Agar: Sehr kräftig, sonst unverändert, alle Morphoden, viele Sporen. Der Agar färbt sich nach 4 Wochen ein wenig bräunlich.

Aus diesen Beobachtungen geht hervor, daß die Unterschiede in der Entwickelung auf D-Agar und auf Asparagin-Agar bei allen untersuchten

Stämmen gleichsinnig zutage treten: Die Keimung der Sporen trat auf D-Agar im allgemeinen etwas rascher ein als auf Asparagin-Agar, im weiteren Verlauf der Entwickelung blieb sich der Verlauf der Entwickelung auf beiden Nährböden ziemlich gleich, vielleicht trat auf Asparagin-Agar die Sporangienbildung etwas eher ein, trotzdem kam auf D-Agar die Entwickelung schneller zum Abschluß, denn wenn z. B. nach 5 Tagen auf D-Agar fast nur Sporen vorhanden waren, fanden sich auf Asparagin-Agar noch beide anderen Morphoden vor. Dieser verzögerte Abschluß der Sporenbildung hängt mit der sehr üppigen vegetativen Vermehrung auf Asparagin-Agar zusammen. Bemerkenswert ist auch, daß auf letzterem Nährboden die Schleimbildung sehr vermehrt war (Rohrzucker). Bezüglich der Größe der auf beiden Nährböden gewachsenen einzelnen Morphoden war kein Unterschied wahrnehmbar, ebensowenig in der Speicherung der Reservestoffe. Im Aussehen der Sporen war bei den Stämmen A und 1 ein bemerkenswerter Unterschied zu beobachten insofern, als auf D-Agar die Leisten und Zacken sehr undeutlich, auf Asparagin-Agar dagegen sehr deutlich sichtbar ausgebildet wurden. Endlich ist noch erwähnenswert die Verfärbung des Asparagin-Agar. Diese Braunfärbung fand besonders rasch und auffällig beim Stamm 62 statt, während sie bei den übrigen Stämmen meist erst nach 14-tägiger Kultur begann, auch die Stärke der Braunfärbung war bei den verschiedenen Stämmen verschieden[1]).

b) Entwickelungszyklus der Stämme auf Asparagin-Agar bei 28°.

Es ist sehr bemerkenswert, wie gleichartig die Schnelligkeit des Entwickelungszyklus von Spore zu Spore bei den verschiedenen Stämmen ist. Die Keimung der 1 Minute lang gekochten Sporen beginnt bei 28° durchschnittlich nach ca. 12 Stunden, die verschiedenen Sporen keimen sehr verschieden schnell, so daß man oft nach 20 Stunden neben vielen Schwärmern noch eine reichliche Menge ungekeimter Sporen vorfindet; 24 Stunden nach der Aussaat ist die Keimung meist vollzogen und ca. 54 Stunden nach der Aussaat findet man bereits wieder die ersten freien Sporen vor. Dieser Gang ist bei allen Stämmen eigentlich absolut gleichartig, allerdings beobachtete ich, wenn ich mehrere Stämme zur gleichen Zeit aussäte, um sie zu vergleichen, sehr häufig, daß die Schnelligkeit des Entwickelungszyklus bei vielen Stämmen anscheinend verschieden war, bei Wiederholung des Versuches kam es dann aber oft vor, daß derjenige Stamm, der beim ersten Versuche am weitesten zurück war, beim zweiten am schnellsten zum Abschluß der Entwickelung gelangte und umgekehrt; bei allen diesen Versuchen handelte es sich aber nur um Differenzen von höchstens einigen Stunden (s. auch Tab. II auf p. 72—73), die ja durch die Dichte der Aussaat etc. leicht zu erklären sind und die, wie gesagt, auch niemals bei einem Stamm konstant ausgeprägt waren. Eine Ausnahme machten die Stämme A (Originalstamm), C („B. clostridioides"), D („B. dilaboides") und E („Cl. Polymyxa"). Bei diesen Stämmen war der ganze Entwickelungsgang erheblich verzögert. Diese Stämme sind ohne Frage (s. auch später „Sporengröße", S. 60) im Laufe der Kultur geschwächt worden, bezw. schon bei der Isolierung (Stamm C und D) geschwächt gewesen.

Der Originalstamm (Stamm A) verhielt sich bei seiner Beschreibung 1895 ähnlich wie die von mir jetzt frisch isolierten Stämme: Nach 14

1) Die Braunfärbung des Asparagin-Agars findet auch durch andere Spezies statt, z. B. trat durch Bac. subtilis ebenfalls bald eine sehr auffällige Verfärbung ein.

bis 18 Stunden waren Schwärmer, nach 24 Stunden Ruheoidien, nach 48 Stunden Sporangien und nach 64 Stunden isolierte Sporen vorhanden (17), während jetzt die Keimung zwischen 30 und 64 Stunden stattfindet, die ersten Sporangien nach ca. 110 Stunden bemerkbar sind und die ersten freien Sporen nach ca. 125 Stunden gefunden werden.

Interessant ist, daß der Stamm B („B. asterosporus α“), welcher sich jetzt seit 3 Jahren in Kultur befindet, noch gar nicht zurückgegangen ist, auch bezüglich seiner Sporengröße und seiner Kardinalpunkte der Sauerstoffkonzentration verhält er sich noch genau, wie die frisch isolierten kräftigen Stämme.

c) Wachstum auf D-Gelatine.

Auch das Wachstum auf D-Gelatine ist bei allen Stämmen höchst gleichartig. Längs des Stichkanales entstehen kleine runde, perlschnurartig aneinander gereihte Kolonieen, deren weiteres Wachstum dann nicht beobachtet werden kann, weil bald Verflüssigung der Gelatine eintritt und außerdem der Nährboden infolge Gasbildung zerrissen wird. Die Verflüssigung findet bei allen Stämmen statt, nur ist die Schnelligkeit derselben eine verschiedene. Bei einem Versuche war nach ca. 4 Monaten — Zimmertemperatur — bei allen Stämmen völlige Verflüssigung eingetreten, mit Ausnahme der Stämme 1, 40, 42, 58, 60, 75, 116, A, C, D und E, bei denen die Gelatineschicht unten noch 2 bis 4 cm hoch unverflüssigt geblieben war, beim Stamm D war nur längs des Impfstiches eine geringe Verflüssigung eingetreten.

II. Vergleichende Untersuchungen über die Sporengröße der verschiedenen Stämme.

Die Messungen der Sporengrößen wurden in folgender Weise ausgeführt: Von einer mindestens 4 Wochen alten Kultur auf D-Agar wurden möglichst geringe Mengen reifen Sporenmateriales entnommen, mit sehr wenig Jodjodkaliumlösung (1,0 Jod, 0,5 Jodkalium, 100 Wasser) auf dem Objektträger verrieben und von diesem Präparate je 50 Sporen mittels Zeichenprismas gezeichnet, wobei die Konturen des Bildes mit der Bleistiftspitze genau nachgezogen wurden. Beim Zeichnen wurden natürlich alle Sporen, die in einem jeweiligen Gesichtsfelde lagen, berücksichtigt, so daß also ohne Auswahl alle jeweilig vorkommenden Größen getroffen wurden. Um dies erreichen zu können, muß man bei der Herstellung des Präparates darauf achten, daß nur wenig Sporenmaterial genommen wird, man wählt dann beim Zeichnen immer solche Stellen im Präparate aus, an denen die Sporen möglichst vereinzelt in einem Gesichtsfelde liegen.

Aus diesen 50 Einzelbestimmungen der Größe der Sporen eines jeden Stammes wurde dann das Mittel genommen einfach in der Weise, daß die einzelnen Zahlen addiert und die erhaltene Summe mit 0,02 multipliziert wurde. Nur der theoretische Durchschnittswert, welcher sich aus der aus sämtlichen Einzelbestimmungen konstruierten allgemeinen Variationskurve ergibt, wurde auch unter Anwendung der statistischen Methode nach Davenport (8) berechnet. Garbowski (9) berechnete die den Einzelmessungen entsprechenden Durchschnittswerte immer nach dieser statistischen Methode, doch sind die Zahlen, die man einfach durch Division der Summe der erhaltenen Einzelwerte durch die Summe der gemessenen Individuen erhält, diesen so nahe, daß die Differenzen für unsere Zwecke gar nicht in Betracht kommen, wie ein Vergleich folgender Zahlen, welche Garbowski aus je 100 Einzelbestimmungen nach der statistischen Methode berechnete, mit den in Klammern beige-

fügten durch einfache Addition und Division erhaltenen Zahlen zeigt: 1,73 (1,736), 1,71 (1,702), 1,70 (1,734), 1,87 (1,900), 1,21 (1,206), 0,98 (0,978).

Es ist bei Bac. asterosporus nicht ganz einfach, die Größe der Sporen durch Zeichnung absolut genau wiederzugeben, da, je nachdem die über die Pole hinausragenden Leisten und die die Seiten überragenden Zacken dieser Leisten der Exine mitberücksichtigt werden oder nicht, die Sporen größer oder kleiner gezeichnet werden. Um die Größe der Fehler, die durch dieses eventuell ungenaue Zeichnen veranlaßt werden, genau festzustellen, wurden vergleichende Zeichnungen und Messungen an demselben Materiale vorgenommen, indem, genau wie sonst, alle in einem jeweiligen Gesichtsfelde liegende Sporen zweimal gezeichnet wurden und zwar auf zwei getrennten Kartons, so daß also von denselben Sporen zwei vergleichende Zeichnungen erhalten wurden (zweimal 50 Sporen). Diese wurden dann gemessen und in der gewöhnlichen Weise aus diesen Einzelmessungen die Mittelwerte erhalten. Nachstehend seien die zu diesem Zwecke vorgenommenen Messungen mit ihren Kontrollen mitgeteilt.

		Anzahl der Individuen							
		Stamm 62 (Samoa)		Stamm 119 (Hammerfest)		Stamm 126 (Tokio)		Stamm 131 (Paramaribo)	
		Messung I	Messung II	Messung I	Messung II	Messung I	Messung II	Messung I	Messung II
Breite der Sporen in μ	0,8	—	—	—	—	2	1	—	—
	1,0	9	11	11	12	4	5	2	3
	1,2	23	24	29	23	11	10	16	21
	1,4	14	13	10	15	17	16	29	23
	1,6	4	2	—	—	13	16	3	3
	1,8	—	—	—	—	3	2	—	—
Mittel in μ		1,252	1,202	1,196	1,212	1,352	1,388	1,332	1,304
Differenz		± 0,050 μ		± 0,016 μ		± 0,036 μ		± 0,028 μ	
Länge der Sporen in μ	1,4	—	—	—	—	—	1	—	—
	1,6	—	—	—	—	1	1	—	—
	1,8	—	—	10	10	1	2	—	—
	2,0	6	6	20	17	5	3	6	9
	2,2	9	15	17	18	7	8	15	18
	2,4	19	20	3	4	18	16	21	17
	2,6	11	6	—	1	10	11	7	5
	2,8	5	2	—	—	3	4	1	1
	3,0	—	1	—	—	4	4	—	—
	3,2	—	—	—	—	1	—	—	—
Mittel in μ		2,400	2,344	2,052	2,076	2,432	2,408	2,328	2,284
Differenz		± 0,056 μ		± 0,024 μ		± 0,024 μ		± 0,044 μ	

Die durch das Zeichnen und Messen hervorgerufene größte Differenz des Mittelwertes betrug demnach

für Breite 0,050 μ = 4,0 Proz. des Mittelwertes,
„ Länge 0,056 μ = 2,3 „ „ „

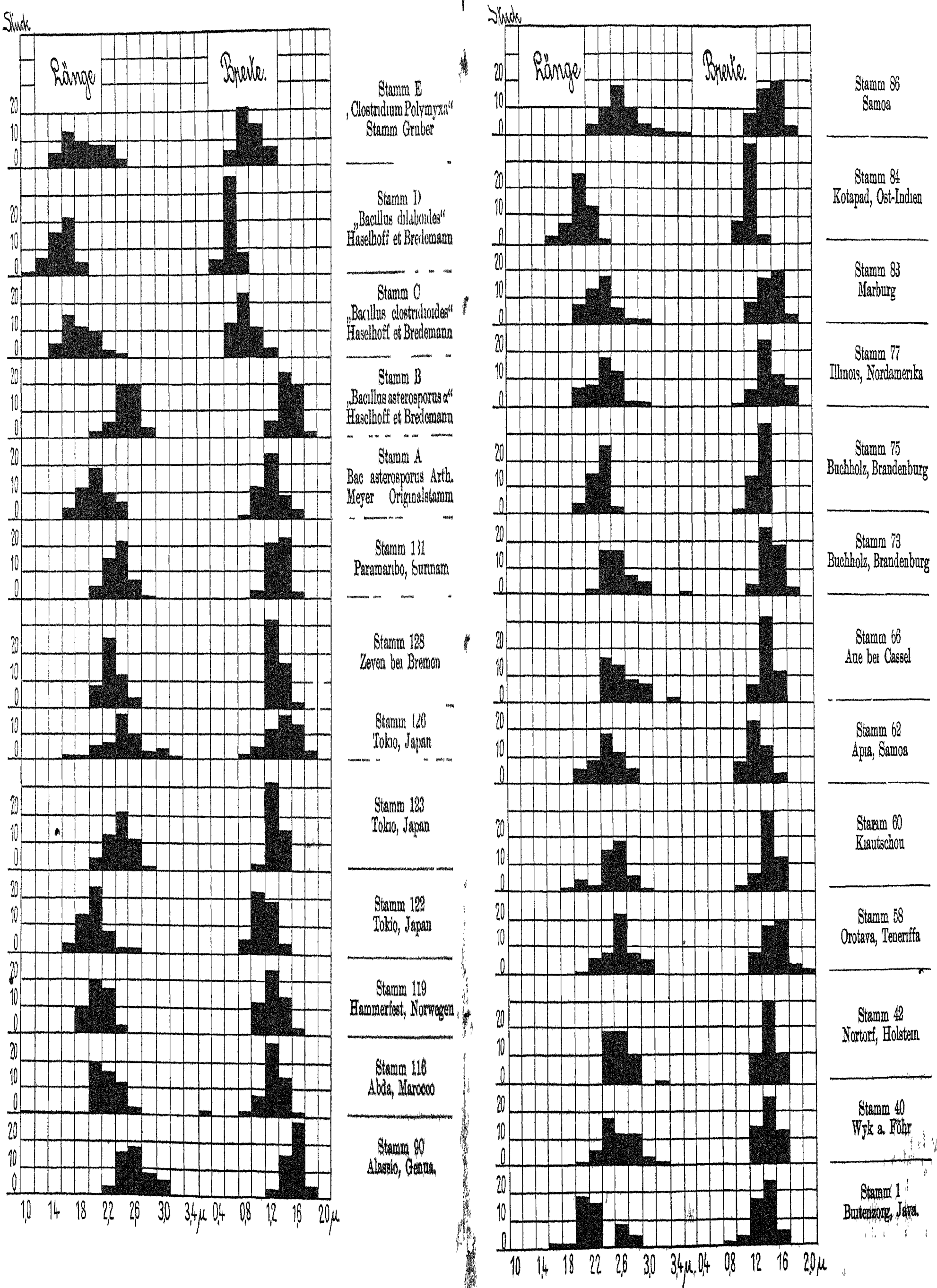
die kleinste Differenz betrug

für Breite 0,016 μ = 1,3 Proz. des Mittelwertes,
„ Länge 0,024 μ = 1,1 „ „ „

Zur weiteren Kontrolle der Richtigkeit der Messungen wurde dann noch eine andere Vergleichsmessung in der Weise ausgeführt, daß aus ein und derselben Kultur zur gleichen Zeit drei verschiedene Sporenpräparate angefertigt und von diesen je 50 Sporen gezeichnet und ge-

Bredemann, G., *Untersuchungen über die Variation und das Stickstoffbindungsvermögen des Bacillus asterosporus A. M. etc.*

Graphische Darstellung der Sporengröße der verschiedenen Stämme des Bacillus asterosporus A M



Verlag von Gust. Fischer in Jena.

messen wurden. Folgendes sind die erhaltenen Werte: (Stamm 122 Tokio).

	Anzahl der Individuen		
	Messung I	Messung II	Messung III
Breite μ 0,8	5	3	2
„ „ 1,0	22	20	22
„ „ 1,2	19	19	21
„ „ 1,4	4	8	5
Mittel μ	1,088	1,124	1,116
größte Differenz = ± 0,036 μ oder 3,3 Proz. des Mittelwertes			
Länge μ 1,6	3	2	3
„ „ 1,8	13	15	12
„ „ 2,0	24	20	24
„ „ 2,2	8	11	6
„ „ 2,4	1	2	4
„ „ 2,6	1	—	—
Mittel μ	1,976	1,984	1,996

größte Differenz = ± 0,020 μ oder 1,0 Proz. des Mittelwertes

Man sieht, daß mit Hilfe des angewendeten Verfahrens recht brauchbare vergleichende Werte zu erhalten sind.

Nachstehend seien zunächst die durch Messung erhaltenen Zahlen für die Länge und Breite sämtlicher 27 Stämme des Bac. asterosporus zusammengestellt. Die Werte beziehen sich also auf völlig ausgereiftes — mindestens 6 Wochen altes — Sporenmaterial von Stämmen, welche nach der Isolierung annähernd $^1/_4$ Jahr auf D-Agar bei 28° und gewöhnlichem Luftdruck vorkultiviert waren. Die Sporen sind in verdünnter Jodlösung (1,0 J + 0,5 KJ + 100 ccm H_2O) liegend mittels Zeichenprismas in der Weise gezeichnet, daß die Konturen des Bildes genau nachgezogen wurden (siehe Tabelle I).

Um eine bessere Uebersicht über diese Zahlenwerte zu ermöglichen, sind die Größenverhältnisse für Länge und Breite der Sporen der verschiedenen Stämme in den Tafeln 1 und 2 in graphischer Weise dargestellt (die Werte für Stamm 88, Marburg, wurden aus Platzmangel fortgelassen, die Figur dieses Stammes entspricht fast ganz derjenigen des Stammes 119, Hammerfest). Diese graphischen Figuren sind in der Weise entworfen, daß die direkten Messungen eingetragen wurden, es ist also durch direktes Ablesen von der Ordinate zu ersehen, wie viele von den 50 Sporen die auf der Abszisse eingetragenen verschiedenen Längen und Breiten besitzen.

Betrachten wir diese graphischen Darstellungen der Sporengrößen der verschiedenen Stämme des Bac. asterosporus, so bemerken wir, daß sämtlichen Figuren eine eingipfelige Kurve entsprechen würde, und es ist sehr bemerkenswert, in wie engen Grenzen die Gipfel dieser Kurven schwanken. Bei der Breite liegen die Gipfel 7mal bei 1,2 μ, 11mal bei 1,4 μ und 4mal bei 1,6 μ, nur in 3 Fällen kommt eine größere Abweichung nach unten zu vor, die Gipfel für Stamm C und E liegen bei 0,8 μ, bei Stamm D liegt derselbe bei 0,6 μ. Die Gipfel der Variationskurven für die Länge liegen 6mal bei 2,0 μ, 1mal bei 2,2 μ, 9mal bei 2,4 μ, 4mal bei 2,6 μ und 3mal zwischen 2,4 und 2,6 μ; eine Verschiebung der Gipfel nach unten zu (1,6 μ) findet auch hier wieder nur bei denselben 3 Stämmen statt, bei denen auch die Gipfel der Variationskurven für die Breite nach unten verschoben sind.

Tabelle I. Anzahl

Breite der Sporen in μ	1. Stamm 1 Buitenzorg	2. Stamm 40. Wyk a. Föhr	3. Stamm 42 Nortorf i. Holstein	4. Stamm 58 Orotava, Teneriffa	5. Stamm 60 Kiautschou	6. Stamm 62 Samoa	7. Stamm 66 Aue b. Cassel	8. Stamm 73 Pritzwalk, Brandenburg	9. Stamm 75 Pritzwalk, Brandenburg	10. Stamm 77 Illinois	11. Stamm 83 Marburg	12. Stamm 84 Ostindien
0,4	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
0,6	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
0,8	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
1,0	3	.	.	.	2	9	.	.	2	1	.	9
1,2	18	13	10	8	6	23	7	4	14	6	9	38
1,4	23	25	30	18	30	14	32	25	34	24	17	3
1,6	5	12	10	20	11	4	11	18	.	11	20	.
1,8	.	.	.	3	—	.	.	3	.	8	4	.
2,0	.	.	.	1	1	.	.	.	.	.	.	.
Mittel	1,31	1,40	1,40	1,48	1,42	1,25	1,42	1,48	1,33	1,48	1,48	1,20

Länge der Sporen in μ	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.
1,0	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
1,2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
1,4	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
1,6	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	3
1,8	1	.	.	.	1	.	.	.	.	.	.	8
2,0	19	1	.	1	4	6	.	.	4	7	8	25
2,2	17	5	.	6	2	9	.	2	16	8	13	13
2,4	—	18	19	8	17	19	17	17	27	18	18	1
2,6	8	11	19	22	19	11	14	17	3	13	7	.
2,8	4	11	10	8	5	5	9	8	.	2	2	.
3,0	.	3	—	5	2	.	8	5	.	2	2	.
3,2	.	1	1	.	.	.	—	—	.	.	.	.
3,4	.	.	—	.	.	.	2	—	.	.	.	.
3,6	.	.	1× = 4,6 μ	.	.	.	.	1	.	.	.	.
Mittel	2,22	2,52	2,62	2,58	2,49	2,40	2,66	2,52	2,30	2,40	2,35	2,00

Aus diesen Tatsachen ergibt sich die außerordentliche Gleichartigkeit der Sporen aller Stämme des Bac. asterosporus. Die Gleichartigkeit ist vorzüglich bei der Breite ausgeprägt, denn abgesehen von den 3 anormalen Fällen betragen die Abweichungen der Kurvengipfel nach oben und unten hin nur je 0,2 μ.

Ueber diese 3 Stämme: C („Bac. clostridioides“ Haselhoff et Bredemann), D („Bac. dilaboides“ Haselhoff et Bredemann) und E („Clostridium Polymyxa“ Stamm Gruber), deren Sporengröße ziemlich erheblich von der der übrigen Stämme abweicht, müssen noch einige Worte gesagt werden. Diese 3 Stämme sind, ebenso wie die Stämme A und B, schon seit mehreren Jahren in Kultur. Die Stämme B, C und D waren Anfang 1905 von Haselhoff und mir aus bombierten Konservenbüchsen isoliert worden (14), Stamm E wurde 1905 als aus pasteurisierter Milch stammend von Gruber beschrieben (12), Stamm A ist seit über 10 Jahren im hiesigen botanischen

der Individuen.

13.	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.	21.	22.	23.	24.	25.	26.	27.
Stamm 86 Samoa	Stamm 88 Marburg	Stamm 90 Genua	Stamm 116 Marokko	Stamm 119 Hammerfest	Stamm 122 Tokio	Stamm 123 Tokio	Stamm 126 Tokio	Stamm 128 Zeven, Hannover	Stamm 131 Paramaribo	Stamm A Original, Arth. Meyer	Stamm B „B. asterosp. α" Haselhoff et Bredemann	Stamm C „B. clostridioides" Haselhoff et Bredemann	Stamm D „B. dilaboides" Haselhoff et Bredemann	Stamm E „Clostr. Polymyxa" Stamm Gruber
														.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	5	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	12	36	6
.	.	.	1	.	5	.	2	.	.	1	.	24	9	21
.	9	.	7	11	22	2	4	.	3	12	.	11	.	16
9	36	2	27	24	19	33	11	32	21	24	5	3	.	7
17	5	16	14	13	4	15	17	17	23	9	24	.	.	.
20	.	28	1	2	.	.	13	1	3	4	20	.	.	.
4	.	4	.	.	.	.	3	.	.	.	1	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
1,48	1,18	1,54	1,23	1,20	1,09	1,25	1,35	1,28	1,33	1,20	1,47	0,82	0,62	0,90

.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	7	
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	6	16	6
.	.	.	.	.	3	.	1	.	.	4	.	16	21	13
.	1	.	.	10	13	.	1	.	.	11	.	11	5	10
.	21	.	20	20	24	4	5	9	6	19	2	10	.	9
4	24	3	16	17	8	13	7	25	15	10	5	4	.	9
10	4	16	11	3	1	21	18	12	21	6	20	3	.	3
18	.	17	2	.	1	11	10	4	7	.	20	.	.	.
10	.	8	—	.	.	1	3	.	1	.	3	.	.	.
4	.	6	—	.	.	.	4	.	.	.	.	.	.	.
2	.	.	—	.	.	.	1	.	.	.	.	.	.	.
1	.	.	—	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
1	.	.	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
2,70	2,12	2,59	2,21	2,05	1,98	2,37	2,43	2,24	2,33	2,01	2,47	1,80	1,49	1,84

Institute in lebhafter Kultur. Ueber die ursprüngliche Sporengröße der Stämme A und E finden sich in der Literatur keine Angaben. Die Sporengröße der Stämme C und D war von Anfang an verhältnismäßig gering, während sich Stamm B durch sehr große Sporen auszeichnete; Haselhoff und Bredemann bezeichneten ihn eben vorzüglich wegen dieser auffälligen Abweichung von der Sporengröße des Bac. asterosporus als „Bac. asterosporus α". Die Sporengrößen dieser 3 Stämme betrugen im Sommer 1905 nach Haselhoff und Bredemann — die jetzigen Messungen sind in Klammern daneben gesetzt — für Stamm B („Bac. asterosporus α") mittlere Länge 2,5 μ (2,47), mittlere Breite 1,6 μ (1,47), Sporen von 2,9 : 1,7 μ (2,6 : 1,4) häufig, größte Länge 3,5 μ (2,8), kleinste Länge 2,0 μ (2,0), größte Breite 2,2 μ (1,8), kleinste Breite 1,3 μ (1,2). Für den Stamm C („Bac. clostridioides") geben dieselben Autoren an: Länge zwischen 2,3 und 1,5 μ (2,4 und 1,4), Breite zwischen 0,8 und 1,3 μ (0,6 und 1,2) meist 1,9 : 1,1 μ (1,6 : 0,8);

die Sporengrößen des Stammes D („Bac. dilaboides") betrugen: Länge zwischen 1,5 und 1,9 μ (1,0 und 1,8), Breite zwischen 0,7 und 0,9 μ (0,4 und 0,8), meist 1,9 : 0,9 μ (1,6 : 0,6). Während so die Größe der Sporen des Stammes B ziemlich unverändert geblieben ist — die damals angegebene größte Länge von 3,5 μ bezieht sich auf bisweilen vorkommende anormal große Sporen — haben die Sporen der Stämme C und D, deren Sporengröße, wenn auch durchschnittlich geringer, als die Normalgröße, früher doch durchaus innerhalb der normalen Variationsbreite (s. Fig. 2) lag, im Laufe der Jahre eine deutliche Verkleinerung erfahren. Es ist bemerkenswert, daß nur die Sporen dieser beiden Stämme und wahrscheinlich auch die des Stammes E (Clostr. Polymyxa), über dessen ursprüngliche Sporengröße nichts bekannt ist, eine solche Verkleinerung erfahren haben, trotzdem alle Stämme unter genau gleichen Bedingungen kultiviert wurden. Vermutlich handelt es sich hier um Stämme, die schon bei ihrer Isolierung durch irgendwelche äußere Einflüsse geschwächt waren, sie erscheinen übrigens nicht nur in ihrer Sporengröße, sondern auch in allen übrigen Eigenschaften geschwächt.

Es lag nahe zu versuchen, ob es gelänge, die im Laufe der Zeit kleiner gewordenen Sporen der erwähnten beiden Stämme C und D durch geeignete Kulturbedingungen wieder auf die frühere Größe zu bringen. Nach dieser Richtung hin angestellte Versuche, welche jedoch als rein vorläufige anzusehen sind, die Sporen des Stammes D („Bac. dilaboides") durch wiederholte Erdpassage, welche sich zur Regeneration des Stickstoffbindungsvermögens des Bac. asterosporus und des Bac. amylobacter A. M. et Bredemann als hervorragend günstig gezeigt hatte, wieder in die Höhe zu bringen, scheinen in der Tat ein positives Resultat gezeitigt zu haben. Ich war in der Weise vorgegangen, daß ich von einer jungen Kultur dieses Stammes in sterile Gartenerde übertrug, in dieser ca. 8 Wochen wachsen ließ und dann von dieser Erdkultur kleine Mengen in neue sterile Erde übertrug, wobei gleichzeitig auf Agar abgeimpft wurde, um die Sporengröße festzustellen usf. Auf diese Weise scheint in der Tat eine, wenn auch nur geringe, so doch deutliche Vergrößerung der Sporen erzielt worden zu sein, wie folgende Messungen zeigen:

	Anzahl der Individuen		
	D-Agar	I. Erdprobe	II. Erdprobe
Breite μ 0,4	5	1	—
„ „ 0,6	36	11	8
„ „ 0,8	9	31	36
„ „ 1,0	—	7	6
Mittel μ	0,62	0,78	0,79
Länge μ 1,0	1	—	—
„ „ 1,2	7	1	2
„ „ 1,4	16	5	5
„ „ 1,6	21	29	31
„ „ 1,8	5	8	8
„ „ 2,0	—	4	2
„ „ 2,2	—	3	2
Mittel μ	1,49	1,67	1,64

Vielleicht würden sich durch längere Zeit hindurch fortgesetzte Kultur in Erde oder durch andere Kulturverfahren noch bessere Resultate erzielen lassen.

Wie ein allmähliches Verkleinern der Sporen zustande kommen kann, beobachtete Garbowski (9) an einem Stamme von Bac. tumes-

cens, den er frisch aus Gartenerde isoliert hatte. Dieser Stamm zeigte in ganz auffälliger Weise eine Nachkeimung der Sporen; kaum wurden die ersten Sporen aus ihren Mutterzellmembranen in Freiheit gesetzt, so konnte man einige von ihnen beobachten, welche direkt wieder auskeimten und zwar nicht normal mit einem gewöhnlichen Keimstäbchen, sondern mit einem Sporangium, d. h. in dem jungen Keimstäbchen war direkt schon wieder eine Spore ausgebildet, bisweilen füllte diese das Keimstäbchen so vollständig aus, daß es den Eindruck erweckte, als trete direkt eine neue Spore aus der alten Sporenhaut heraus. Die Folge dieser sekundären Sporenbildung war eine allmähliche Abnahme der Sporengröße beim Aelterwerden der entsprechenden Kulturen, so sank die Durchschnittsgröße nach $^1/_2$-jähriger Kultur unter öfterem Umimpfen auf $^1/_3$ D-Agar von 2,17 μ auf 1,65 μ; gleichzeitig hörte die Erscheinung der Nachkeimung allmählich auf. Daß jedoch auch nach mehrjähriger Kultur noch die erwähnte „Nachkeimung" stattfinden kann, beweist die gleichfalls von Garbowski (10) an Bac. asterosporus beobachtete Nachkeimungserscheinung der Sporen. Garbowski hatte zu diesen seinen Untersuchungen unseren Stamm B („Bac. asterosporus α") in Händen, welcher sich bereits seit 2 Jahren in Kultur befand.

Da ich mich nach der Reinisolierung der verschiedenen Stämme (Winter 1905/06) damit begnügt hatte, die frisch isolierten Stämme zwecks Vorkultivierung ca. alle 14 Tage umzuimpfen, ohne ihren Entwickelungsgang mikroskopisch genau zu verfolgen, habe ich damals bei den frisch isolierten Stämmen Nachkeimung nicht bemerkt, daß sie jedoch bisweilen auch noch in den längere Zeit hindurch vorkultivierten Kulturen vorkommt, habe ich in Uebereinstimmung mit Garbowski beobachtet, sie verläuft genau in der Weise, wie Garbowski dies schildert und abbildet (10).

Aus genanntem Grunde kann ich auch keine Angaben über die eventuelle Verkleinerung der Sporen der frisch isolierten Stämme während der Vorkultivierung machen. Die oben mitgeteilten Größenangaben beziehen sich auf mindestens 3 Monate hindurch vorkultivierte Stämme. Nach dieser Zeit tritt nach meinen, sich auf die Zeit von $1^1/_4$ Jahr erstreckenden Beobachtungen eine durchgreifende Verkleinerung durch eventuelle Nachkeimung nicht ein, auch die Sporengröße des Stammes B hat sich nach 3-jähriger Kultivierung durch eventuelle Nachkeimung nicht verändert, so daß die mitgeteilten Sporengrößen also bis auf weiteres ihre Gültigkeit behalten.

Betrachten wir die sich aus den Einzelmessungen von je 50 Sporen eines Stammes — ergebenden Durchschnittswerte für Länge und Breite in der Tabelle I auf p. 60—61 — so sind diese nicht derartig übereinstimmend, wie die Kurven, was ja leicht erklärlich ist, wenn bei einem Stamme einmal mehr größere und einmal mehr kleinere Sporen ausgebildet waren.

Durch Zusammenfassung sämtlicher Einzelwerte für Länge und Breite der Sporen der verschiedenen Stämme ergibt sich dann eine für die Speciesdiagnose höchst wichtige Variationskurve für die Species.

Aus den 1350 Einzelmessungen ergibt sich, daß von 1000 Sporen des Bac. asterosporus sind: (Siehe p. 64.)

Daraus berechnet sich ein Mittelwert durch Addition der einzelnen Werte und Division durch 1000

für Breite = 1,28 μ
für Länge = 2,29 μ

breit 0,4 µ	4 Stück,	lang 1,0 µ	1 Stück
0,6 „	40 „	1,2 „	5 „
0,8 „	47 „	1,4 „	21 „
1,0 „	94 „	1,6 „	46 „
1,2 „	300 „	1,8 „	53 „
1,4 „	333 „	2,0 „	166 „
1,6 „	158 „	2,2 „	187 „
1,8 „	22 „	2,4 „	243 „
2,0 „	2 „	2,6 „	172 „
		2,8 „	67 „
		3,0 „	30 „
		3,2 „	4 „
		3,4 „	2 „
		3,6 „	2 „
		⋮	⋮
		4,6 „	1 „

Der Mittelwert (Galtons Mediane), nach Davenport „Statistical Methods“ (8) berechnet, ergibt

für Breite = 1,31 µ

für Länge = 2,32 µ

Aus obigen Werten leitet sich die in Fig. 2 dargestellte allgemeine Variationskurve für die Größe der auf D-Agar bei einer Temperatur von 28° und bei gewöhnlichem Luftdruck entstandenen Sporen der Species Bac. asterosporus A. M. ab.

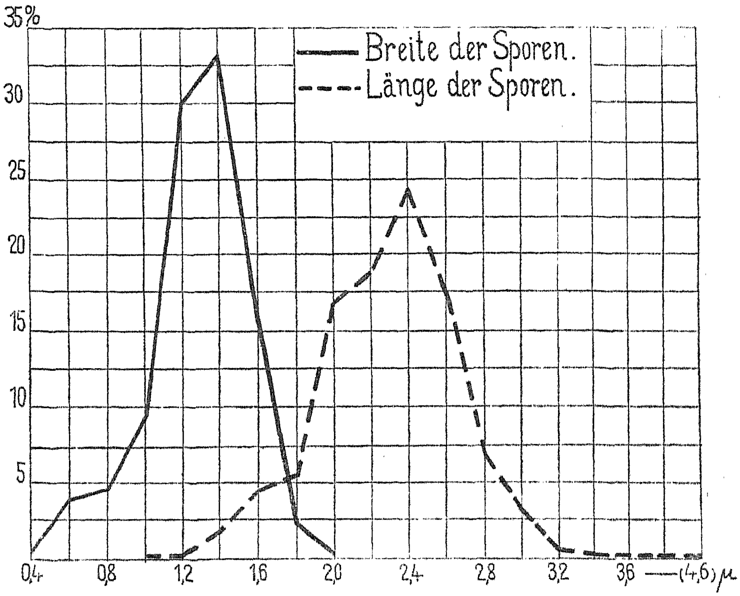


Fig. 2.

Wir erhalten so zwei eingipfelige sehr regelmäßige Kurven, deren Verlauf auffallende Uebereinstimmungen zeigt.

Die Exine der Sporen von Bac. asterosporus ist, wie erwähnt, mit Längsleisten besetzt, welche ihrerseits wieder kleine Zäckchen tragen (s. Fig. 1 p. 53). Diese Leisten und Zacken sind besonders bei den größeren Formen, z. B. Stamm B, Stamm 62 etc. gut sichtbar, bei den kleineren (Stamm A, Stamm 1) weniger gut. Es ist auffällig, daß auch die Anzahl der Leisten bei allen Stämmen, soweit gezählt, durchaus übereinstimmt, sie können an der aufrecht stehenden Spore bequem gezählt

werden. Ihre Zahl schwankte stets zwischen 8 und 12, so wurden gefunden beim Stamm 62: 1mal 8, 1mal 9, 3mal 10, 1mal 11 Leisten; beim Stamm 66: 2mal 11, 1mal 12 Leisten; beim Stamm 83: 1mal 10, 3mal 11, 2mal 12 Leisten; beim Stamm 86: 6mal 9, 4mal 10, 4mal 11, 1mal 12 Leisten; beim Stamm 90: 1mal 9, 1mal 10, 2mal 11 Leisten.

Die eigentümliche Sporenstruktur ist ein ganz vorzügliches diagnostisches Merkmal für den Bac. asterosporus, denn es ist bislang keine andere Species bekannt, deren Sporen eine gleiche Struktur besäßen.

III. Vergleichende Untersuchungen über die Kardinalpunkte der Sauerstoffkonzentration für Sporenkeimung, Oidienwachstum und Sporenbildung der verschiedenen Stämme.

a) Bestimmung des Minimums der Sauerstoffspannung für Sporenkeimung, Oidienwachstum und Sporenbildung.

Wund (24) hatte für Sporenkeimung, Oidienwachstum und Sporenbildung des Bac. asterosporus (Stamm A) die folgenden Werte gefunden:

mg O im Liter	1,3	3,0	4,3	6,8	9,4	20	50	70	130	200	276
Sporenkeimung	0	2	1,4	2	1,6	1,4	1,2	0,7	0,7	0,8	1
Oidienwachstum	0	2	1,1	1,8	1,5	1,3	1,1	0,8	0,8	0,7	1
Sporenbildung	0	0	1,6	1,7	1,5	1,2	1,2	1,4	1,4	1,2	1

In dieser Zusammenstellung ist die Schnelligkeit der Keimung, des ersten Auftretens der Kolonie und der Sporenbildung bei der gewöhnlichen Sauerstoffkonzentration der Luft (276 mg im Liter) gleich 1 gesetzt, die übrigen Zahlen beziehen sich auf diese, es bedeutet also z. B., daß, wenn bei gewöhnlichem Luftzutritt die Keimung in 10 Stunden eintritt, daß diese bei einer Sauerstoffkonzentration von 70 mg im Liter (= ca. $^1/_4$ der Luft) bereits nach 7 Stunden beginnt, oder bei einem Gehalt von 3 mg erst nach 20 Stunden etc.

Schon aus der Art der Isolierung der selbst gezüchteten Stämme, welche, wie erwähnt, bei einem Sauerstoffgehalt von 1 mg im Liter geschehen war, konnte geschlossen werden, daß ihr Minimum tiefer liegen mußte, als es Wund angibt und unterhalb einer Konzentration von 1 mg Sauerstoff im Liter zu suchen war. Während ich noch mit weiteren Versuchen beschäftigt war, erschien eine Abhandlung von Kürsteiner (15), in der er den interessanten Nachweis erbringt, daß der Bac. asterosporus im gänzlich sauerstoffreien Raum sich normal unbegrenzte Zeit ohne freien Sauerstoff entwickelt und Sporen bildet. Kürsteiner kam es bei seinen Versuchen besonders darauf an, die Unhaltbarkeit der Beijerinckschen Theorie der „Mikroaërophilie" darzutun. Von dem Gedanken Beijerincks ausgehend, daß es keine Organismen gibt, die sich bei dauerndem Ausschluß freien Sauerstoffs normal zu entwickeln imstande sind, bemühte er sich in sehr geschickter Weise eine Versuchsanordnung zu schaffen, die es gestattete, eine vom Luftsauerstoff völlig unberührte Ueberimpfung der Keime in ein absolut sauerstofffreies Nährmedium vorzunehmen. Er erreichte dies durch Benutzung seines mehrreihigen anaëroben Zuchtrohres und erzielte eine absolute Sauerstofffreiheit des Nährbodens dadurch, daß er die Nährbouillon eine genügend lange Zeit der Wirkung des über der Bouillon befindlichen alkalischen Pyrogallolverschlusses aussetzte oder schneller durch vorherige Einimpfung aërober Organismen. Als Kontrolle der Sauerstoffabwesenheit unter den genannten Verhältnissen dienten die

breit 0,4 μ	4 Stück,	lang 1,0 μ	1 Stück
0,6 „	40 „	1,2 „	5 „
0,8 „	47 „	1,4 „	21 „
1,0 „	94 „	1,6 „	46 „
1,2 „	300 „	1,8 „	53 „
1,4 „	333 „	2,0 „	166 „
1,6 „	158 „	2,2 „	187 „
1,8 „	22 „	2,4 „	243 „
2,0 „	2 „	2,6 „	172 „
		2,8 „	67 „
		3,0 „	30 „
		3,2 „	4 „
		3,4 „	2 „
		3,6 „	2 „
		⋮	⋮
		4,6 „	1 „

Der Mittelwert (Galtons Mediane), nach Davenport „Statistical Methods“ (8) berechnet, ergibt

für Breite = 1,31 μ

für Länge = 2,32 μ

Aus obigen Werten leitet sich die in Fig. 2 dargestellte allgemeine Variationskurve für die Größe der auf D-Agar bei einer Temperatur von 28° und bei gewöhnlichem Luftdruck entstandenen Sporen der Species Bac. asterosporus A. M. ab.

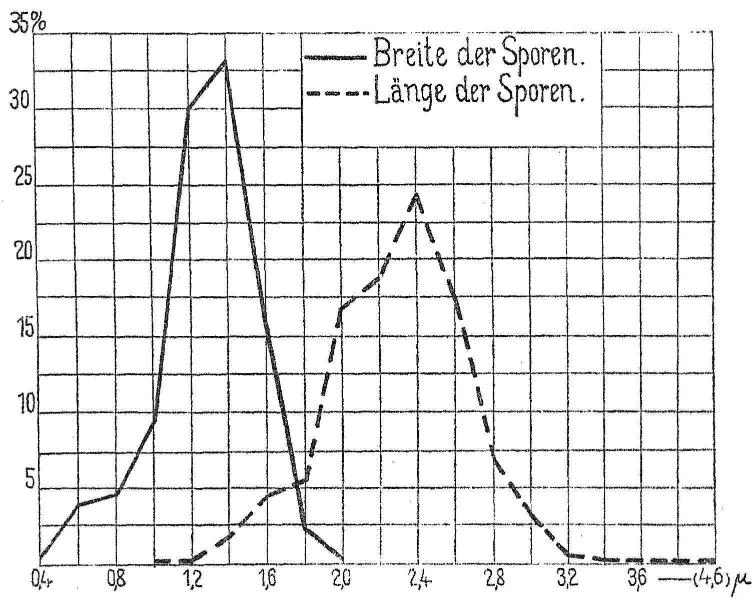


Fig. 2.

Wir erhalten so zwei eingipfelige sehr regelmäßige Kurven, deren Verlauf auffallende Uebereinstimmungen zeigt.

Die Exine der Sporen von Bac. asterosporus ist, wie erwähnt, mit Längsleisten besetzt, welche ihrerseits wieder kleine Zäckchen tragen (s. Fig. 1 p. 53). Diese Leisten und Zacken sind besonders bei den größeren Formen, z. B. Stamm B, Stamm 62 etc. gut sichtbar, bei den kleineren (Stamm A, Stamm 1) weniger gut. Es ist auffällig, daß auch die Anzahl der Leisten bei allen Stämmen, soweit gezählt, durchaus übereinstimmt, sie können an der aufrecht stehenden Spore bequem gezählt

werden. Ihre Zahl schwankte stets zwischen 8 und 12, so wurden gefunden beim Stamm 62: 1mal 8, 1mal 9, 3mal 10, 1mal 11 Leisten; beim Stamm 66: 2mal 11, 1mal 12 Leisten; beim Stamm 83: 1mal 10, 3mal 11, 2mal 12 Leisten; beim Stamm 86: 6mal 9, 4mal 10, 4mal 11, 1mal 12 Leisten; beim Stamm 90: 1mal 9, 1mal 10, 2mal 11 Leisten.

Die eigentümliche Sporenstruktur ist ein ganz vorzügliches diagnostisches Merkmal für den Bac. asterosporus, denn es ist bislang keine andere Species bekannt, deren Sporen eine gleiche Struktur besäßen.

III. Vergleichende Untersuchungen über die Kardinalpunkte der Sauerstoffkonzentration für Sporenkeimung, Oidienwachstum und Sporenbildung der verschiedenen Stämme.

a) Bestimmung des Minimums der Sauerstoffspannung für Sporenkeimung, Oidienwachstum und Sporenbildung.

Wund (24) hatte für Sporenkeimung, Oidienwachstum und Sporenbildung des Bac. asterosporus (Stamm A) die folgenden Werte gefunden:

mg O im Liter	1,3	3,0	4,3	6,8	9,4	20	50	70	130	200	276
Sporenkeimung	0	2	1,4	2	1,6	1,4	1,2	0,7	0,7	0,8	1
Oidienwachstum	0	2	1,1	1,8	1,5	1,3	1,1	0,8	0,8	0,7	1
Sporenbildung	0	0	1,6	1,7	1,5	1,2	1,2	1,4	1,4	1,2	1

In dieser Zusammenstellung ist die Schnelligkeit der Keimung, des ersten Auftretens der Kolonie und der Sporenbildung bei der gewöhnlichen Sauerstoffkonzentration der Luft (276 mg im Liter) gleich 1 gesetzt, die übrigen Zahlen beziehen sich auf diese, es bedeutet also z. B., daß, wenn bei gewöhnlichem Luftzutritt die Keimung in 10 Stunden eintritt, daß diese bei einer Sauerstoffkonzentration von 70 mg im Liter (= ca. $\frac{1}{4}$ der Luft) bereits nach 7 Stunden beginnt, oder bei einem Gehalt von 3 mg erst nach 20 Stunden etc.

Schon aus der Art der Isolierung der selbst gezüchteten Stämme, welche, wie erwähnt, bei einem Sauerstoffgehalt von 1 mg im Liter geschehen war, konnte geschlossen werden, daß ihr Minimum tiefer liegen mußte, als es Wund angibt und unterhalb einer Konzentration von 1 mg Sauerstoff im Liter zu suchen war. Während ich noch mit weiteren Versuchen beschäftigt war, erschien eine Abhandlung von Kürsteiner (15), in der er den interessanten Nachweis erbringt, daß der Bac. asterosporus im gänzlich sauerstofffreien Raum sich normal unbegrenzte Zeit ohne freien Sauerstoff entwickelt und Sporen bildet. Kürsteiner kam es bei seinen Versuchen besonders darauf an, die Unhaltbarkeit der Beijerinckschen Theorie der „Mikroaërophilie" darzutun. Von dem Gedanken Beijerincks ausgehend, daß es keine Organismen gibt, die sich bei dauerndem Ausschluß freien Sauerstoffs normal zu entwickeln imstande sind, bemühte er sich in sehr geschickter Weise eine Versuchsanordnung zu schaffen, die es gestattete, eine vom Luftsauerstoff völlig unberührte Ueberimpfung der Keime in ein absolut sauerstofffreies Nährmedium vorzunehmen. Er erreichte dies durch Benutzung seines mehrreihigen anaëroben Zuchtrohres und erzielte eine absolute Sauerstofffreiheit des Nährbodens dadurch, daß er die Nährbouillon eine genügend lange Zeit der Wirkung des über der Bouillon befindlichen alkalischen Pyrogallolverschlusses aussetzte oder schneller durch vorherige Einimpfung aërober Organismen. Als Kontrolle der Sauerstoffabwesenheit unter den genannten Verhältnissen dienten die

Leuchtbakterien. In diesen Apparaten prüfte Kürsteiner unter anderen auch den Bac. asterosporus. „Im mikroskopischen Bilde der zweitletzten Kultur waren Sporen und sporentragende typische Formen sehr häufig. In der letzten (13.) Kultur herrschten vegetative Formen oft mit deutlichen Sporenvorstufen und entsprechender Gestaltsveränderung der Stäbchen vor. Dabei ist zu bemerken, daß vom Zeitpunkte der Impfung der letzten Kultur bis zur mikroskopischen Prüfung derselben nur 18 Stunden verstrichen waren.“ Nachdem so durch Kürsteiner bereits der exakte Beweis dafür erbracht war, daß das Minimum für das Oidienwachstum und die Sporenbildung — hinsichtlich des Minimums der Sporenkeimung ist mangels einer Angabe, mit welchen Morphoden die Impfungen ausgeführt wurden, nichts ersichtlich — „unter 0“ liegt, konnte ich mich damit begnügen, diese Angabe nachzuprüfen, um gleichzeitig das Minimum für die Sporenkeimung festzustellen und um dabei wieder einige willkürlich herausgegriffene Stämme miteinander zu vergleichen. Da es bei meinen Versuchen nicht darauf ankam, zu untersuchen, ob Bac. asterosporus imstande ist, „in einer beliebigen Anzahl von Generationen hindurch den vollständigen Ausschluß des freien Sauerstoffes zu ertragen, ohne in der Entwickelung und Ausübung der spezifischen Funktionen irgendwie geschädigt zu werden“, konnte ich die Untersuchungstechnik sehr vereinfachen, indem ich festzustellen versuchte, ob bei absoluter Sauerstoffabwesenheit die Entwickelung von Spore zu Spore vor sich gehen konnte.

Zum Impfen wurden sauerstofffrei gemachte Nährböden benutzt[1]). Diese waren in der Weise hergestellt, daß die wie gewöhnlich beschickten Agarröhrchen zuerst ca. $\frac{1}{2}$ Stunde im siedenden Wasserbade ausgekocht und dann sofort ca. 15 Minuten lang auf Eis gelegt wurden. Dann kamen sie ins Vakuum zusammen mit einigen jungen kräftigen Kulturen von Bac. asterosporus und von 2 kräftig leuchtenden Kulturen von Bact. phosphoreum Cohn-Molisch auf schräger Gelatine und in Nährlösung. Das Vakuum wurde soweit wie möglich ausgepumpt und blieb bei ca. 10° 14 Tage lang stehen. Außer diesen Agarröhrchen wurden auch Röhrchen mit Nährlösung (Nährlösung I nach Arth. Meyer) verwendet. Diese Röhrchen wurden im Autoklaven bei 2 Atmosphären sterilisiert, sie kamen dann, nachdem sie fast erkaltet waren, zusammen mit obigen Agarröhrchen und den Bac. asterosporus- und Leuchtbakterienkulturen ins Vakuum. Beim Evakuieren gerieten sie bald ins Sieden, wobei mit dem Wasserdampf die letzten Spuren Sauerstoff herausgespült wurden. Nachdem das Kulturvakuum mit diesen sauerstofffrei zu machenden Röhren 24 Stunden bei 10° gestanden hatte, war in allen Leuchtbakterienkulturen noch ein schwaches Leuchten bemerkbar, nach 48 Stunden leuchteten die Leuchtbakterien in den Nährlösungen nicht mehr, nur am Grunde der Gelatineröhrchen waren noch einige schwach leuchtende Punkte sichtbar, die allerdings selbst mit bei völlig im Dunkeln ausgeruhten Augen nur noch mit Mühe zu erkennen waren, nach 3 Tagen war auch in den Gelatineröhrchen jegliches Leuchten verschwunden, es durfte also das Vakuum als völlig sauerstofffrei angesehen werden. In diesem nunmehr völlig sauerstofffreien Raume verblieben die Röhrchen also noch weitere 11 Tage, damit eventuell im Nährboden noch gelöster Sauerstoff, dessen Menge von Anfang an nur sehr gering gewesen sein konnte — Auskochen und sofortiges Erkalten — Zeit hatte, aus dem Nährboden herauszudiffundieren und von den im Vakuum befindlichen

1) Siehe auch Kap. II „Methodisches“ der demnächstigen Abhandlung über Bac. amylobacter.

Bakterienkulturen absorbiert zu werden. Diese sauerstofffreien Nährböden mußten nun allerdings zum Zwecke des Impfens mit der Luft in Berührung gebracht werden, doch war nicht zu befürchten, daß sie während der ca. 20 Minuten dauernden Berührung mit der Luft irgendwie nennenswerte Mengen Sauerstoff aufnehmen würden. Die Impfung geschah mit eine Minute lang auf 100° erhitztem Sporenmateriale; sofort nach stattgehabter Impfung kamen die Röhrchen ins Vakuum zurück und zwar wurden vier Parallelreihen angesetzt, jede mit je 2 Röhrchen der betreffenden Stämme des *Bac. asterosporus*, nämlich 1) Stamm A (alter Originalstamm), 2) Stamm B (*Bac. asterosporus* α Haselhoff et Bred.), 3) Stamm 42 (Holstein), 4) Stamm 73 (Brandenburg).

Versuchsreihe I bis III.

Zu den mit dem abgekochten Sporenmaterial dieser Stämme geimpften sauerstofffreien Röhrchen wurden zur Absorption der letzten Sauerstoffspuren im Kulturvakuum noch 5 Röhrchen mit jungen *Bac. asterosporus*-Kulturen und 2 lebhaft leuchtende Leuchtbakterienkulturen — eine in Nährlösung und eine auf schräger Gelatine — gestellt und das Kulturvakuum soweit wie möglich evakuiert. Dann wurden die Gefäße bei ca. 10° gehalten, bis kein Leuchten mehr zu bemerken war, bis also aller Sauerstoff von den Kulturen verzehrt und der Raum sauerstofffrei geworden war.

Nach 48 Stunden bei 10° ganz schwaches, nur mit völlig ausgeruhtem Auge sichtbares Leuchten. Nach 72 Stunden kein Leuchten mehr. Die Gefäße bleiben noch weitere 24 Stunden bei 10° stehen. Hierauf kommt Versuchsreihe I in den Thermostaten bei 28°, Versuchsreihe II in Zimmertemperatur von ca. 15°, Versuchsreihe III wird sofort geöffnet: das Leuchten tritt in unverminderter Helligkeit wieder ein. Die mikroskopische Untersuchung ergab, daß bislang bei keinem der Röhrchen Keimung stattgefunden hatte.

Versuchsreihe IV. Es wurde versucht, die letzten Spuren Sauerstoff durch alkalische Pyrogallollösung fortzunehmen, das Kulturvakuum wurde soweit wie möglich ausgepumpt und dann durch Schütteln die Vereinigung der im Kulturvakuum befindlichen 60-proz. Kalilauge mit dem Pyrogallol verursacht. Die Lösung blieb fast farblos, nach 24 Stunden war sie gelblich geworden, das Leuchten der Leuchtbakterien hörte jedoch erst ca. 48 Stunden später auf als bei den Versuchsreihen I bis III, bei denen die letzten Spuren Sauerstoff durch aërob atmende Bakterienkulturen fortgenommen wurden. Nach 5-tägigem Stehen bei 10° war kein Leuchten mehr bemerkbar; das Gefäß wurde in den Thermostaten bei 28° gestellt, wo jedoch die Nährböden so schnell austrockneten, daß diese Versuchsreihe ausgeschaltet werden mußte.

Nachdem Versuchsreihe I 14 Tage bei 28° und Versuchsreihe II 14 Tage bei ca. 15° gestanden hatte, wurde zum Zwecke der mikroskopischen Untersuchung geöffnet. In allen Röhrchen war Keimung und Wachstum eingetreten.

Folgendes sind die Beobachtungen:

Versuchsreihe I (14 Tage ohne Sauerstoff bei 28°).

1) *Stamm A.* Agar: dünner Belag, fast nur aus normalen Stäben ohne Glykogen bestehend, daneben vereinzelte Sporangien und freie Sporen.
Nährlösung I: Am Boden schleimige Masse, neben normalen Stäben verhältnismäßig viele Sporen und Sporangien.

2) *Stamm B.* Agar: Mittelkräftiger Belag, ziemlich viele Sporen, ferner viele sehr körnige Stäbe.
Nährlösung I: ebenso.

3) *Stamm 42.* Agar: Kräftiger Belag, vorwiegend Sporen.
Nährlösung I: ebenso.

4) *Stamm 73.* Agar: Mittelkräftiger Belag, meist Sporen, daneben noch Sporangien und Oidien.
Nährlösung I: ebenso.

Versuchsreihe II (14 Tage ohne Sauerstoff bei ca. 15°).

1) *Stamm A.* Agar: Dünner Belag, lange Stäbe und Fäden, vereinzelte Sporangien und Sporen.

2) Stamm B. Agar: Mittelkräftiger Belag; alle Morphoden, meist Oidien.
Nährlösung I: ebenso.
3) Stamm 42. Agar: Kräftiger Belag; fast nur Sporen.
Nährlösung I: ebenso.
4) Stamm 73. Agar: Mittelkräftiger Belag; viele Oidien, daneben Sporangien und Sporen.
Nährlösung I: ebenso.

Alle Morphoden hatten in beiden Versuchsreihen ein völlig normales mikroskopisches Aussehen.

Durch diese Versuche waren die Befunde Kürsteiners bestätigt, und es ist bewiesen, daß bei 0 mg Sauerstoff im Liter noch vollständige Entwickelung aller Morphoden eintritt.

Auch in diesem Verhalten waren alle untersuchten Stämme gleichartig.

Die Abweichungen meiner Ergebnisse von denen Wunds, welcher das Minimum bei 3 mg im Liter fand, lassen sich vielleicht dadurch erklären, daß Wund bei Zimmertemperatur, ich dagegen bei der konstanten Temperatur von 28° arbeitete. Wunds Beobachtungen erstrecken sich über einen Zeitraum von ca. 4 Wochen und es ist möglich, daß bei der niedrigen Temperatur die Keimung bezw. Sporenbildung sehr verlangsamt worden war.

b) Bestimmung des Maximums der Sauerstoffspannung für Sporenkeimung (gleichzeitig für Oidienwachstum und Sporenbildung).

Bezüglich der Versuchsanstellung sei verwiesen auf Arth. Meyer: Apparat für die Kultur von Bakterien bei hohen Sauerstoffkonzentrationen (21), Wund (24) und auf das Kap. II „Methodisches" meiner demnächst erscheinenden Veröffentlichung über Bac. amylobacter.

Wund (24) hatte 1906 bei seinen diesbezüglichen Versuchen folgende Werte für Bac. asterosporus gefunden (bestimmt am Stamme A).

mg 0 im Liter	276	537	801	1061	1336	2163	3002	4317	5024	5687	6314
Sporenkeimung	1	1,7	2	1,5	2,7	3	4	2,5	3,5	0	0
Oidienwachstum	1	1,3	2	1,3	2,5	3,5	0	0	2,5	?	?
Sporenbildung	1	0	0	0	0	0	0	0	0		

Auch in dieser Zusammenstellung ist die Schnelligkeit der Keimung, der Sporenbildung und des Oidienwachstums bei gewöhnlicher Luftkonzentration gleich 1 gesetzt. Die übrigen Zahlen beziehen sich auf diese und bedeuten z. B., daß die Sporen von Bac. asterosporus bei einem Sauerstoffgehalt von 801 mg im Liter ungefähr doppelt so langsam, bei einem Sauerstoffgehalt von 3002 mg im Liter viermal so langsam keimen, als bei normalem Luftdruck = 276 mg Sauerstoff im Liter.

Die Versuche von Wund wurden bei Zimmertemperatur, die hier beschriebenen bei sonst gleicher Anordnung bei konstanter Temperatur von 28° ausgeführt.

1. Versuch bei einem Sauerstoffgehalt von 5505 mg im Liter.

Als Impfmaterial dienten eine Minute lang bei 100° abgekochte Sporen. Mit diesen wurden je 3 Röhrchen mit D-Agar und je 2 Röhrchen mit Asparagin-Agar geimpft. Je 1 D-Agar-Röhrchen blieb an der Luft zur Kontrolle stehen.

Druck im Kulturraume 20 Atm. kompr. Luft bei 28° = 5505 mg Sauerstoff im Liter. Die Kohlensäure wurde mittels verdünnter Kalilauge absorbiert.

Versuch A. Ausgeführt mit den Stämmen A, B, 1, 58, 60, 62, 75, 77, 90.

Der Apparat wurde geöffnet nach 7 Tagen, nach 21 Tagen und nach 49 Tagen. Keimung konnte nach dieser Zeit bei keinem der Stämme weder auf D-Agar, noch auf Asparagin-Agar festgestellt werden, außer bei den Stämmen B, 60 und 62, auch von diesen entwickelten sich von den 4 im Druckraume befindlichen Parallelröhrchen nur je ein D-Agar-Röhrchen. Sie wurden sofort jedesmal nach der mikroskopischen Betrachtung in den Druckraum zurückgebracht, um ihre Weiterentwickelung bei der hohen Sauerstoffkonzentration beobachten zu können.

Folgendes sind die Beobachtungen:

Nach 7-tägigem Verweilen bei 20 Atmosphären = 5505 mg O.

Stamm B. Neben vereinzelten ungekeimten Sporen ganz normale Stäbe.

Stamm 60. Alle Morphoden und Uebergangsstadien zwischen den einzelnen Morphoden vorhanden. Die Ausbildung derselben ist ganz normal, abgesehen von einer oft sehr starken Anschwellung der Stäbe von der Sporangienbildung.

Stamm 62. Ausschließlich junge Oidien vorhanden.

Nach 21-tägigem Verweilen bei 20 Atmosphären:

Stamm B. Vorwiegend reife Sporen, daneben Sporangien und relativ viele im Absterben begriffene Oidien.

Stamm 60. Ausschließlich reife Sporen.

Stamm 62. Meist Stäbe und Sporen, vereinzelte Sporangien, alles von normalem Aussehen. Einige Stäbe eigenartig schlauchförmig angeschwollen.

Nach 49-tägigem Verweilen bei 20 Atmosphären.

Stamm B. Fast ausschließlich reife Sporen, bisweilen einige abgestorbene, blasig angeschwollene, nicht mehr lichtbrechende.

Stamm 60. Ausschließlich Sporen, neben normalen glänzenden sehr viele sehr große blasig geschwollene matte, anscheinend abgestorbene.

Interessant ist die Einwirkung der hohen Sauerstoffkonzentration auf die Sporen der nicht bei dieser hohen Konzentration gekeimten Stämme.

Die Röhrchen, welche nach 7, 21 und 49 Tagen dem Druckraum entnommen wurden, blieben zur eventuellen nachträglichen Keimung bei 28° an der Luft stehen.

Von den 7 Tage lang bei 5505 mg gehaltenen Sporen keimten nachträglich an der Luft (+) bezw. keimten nicht (—).

	D-Agar-Röhrchen	Asparagin-Agar-Röhrchen
nach 2 Tagen	alle +	alle +
	nur Stamm A —	nur Stamm 75 —
	„ 1 —	„ 1 —
nach 3 Tagen	Stamm A —	Stamm 75 +
	„ 1 —	„ 1 —
nach 14 Tagen	Stamm A —	Stamm 1 +
	„ 1 —	

Von den 21 Tage lang bei 5505 mg O gehaltenen Sporen (auf D-Agar) keimten nachträglich an der Luft:

Nach 3 Tagen: Stamm A —, 1 —, 58 +, 75 +, 77 —, 60 +, 62 +, 90 —.
„ 10 „ „ A —, 1 —, 77 +, 90 +.
„ 4 Wochen „ A +, 1 —.

Von den 49 Tage lang bei 5505 mg O gehaltenen Sporen keimten nachträglich an der Luft:

Nach 3 Tagen	(D-Agar):	Stamm A —, 1 —, 58 +, 60 +, 62 +, 75 +, 77 —, 90 —
	(Asparagin-Agar):	„ A —, 1 —, 58 +, 60 +, 62 +, 75 +, 77 —, 90 +
„ 5 „	(D-Agar):	„ A —, 1 —, 77 —, 90 —
	(Asparagin-Agar):	„ A —, 1 —, 77 —
„ 11 „	(D-Agar):	„ A —, 1 —, 77 —, 90 +
	(Asparagin-Agar):	„ A —, 1 —, 77 —
„ 4 Wochen	(D-Agar):	„ A —, 1 —, 77 —
	(Asparagin-Agar):	„ A —, 1 —, 77 —

Die Sporen sind demnach zum Teil mehr oder minder geschädigt worden, bei einigen Stämmen (58, 60, 62, 75) ist eine Schädigung selbst nach 49-tägiger Einwirkung der hohen Sauerstoffkonzentration kaum bemerkbar, während die Stämme A und 1 schon nach 7-tägiger Einwirkung

nicht mehr keimten und die Keimfähigkeit der Stämme 77 und 90 durch die hohe Sauerstoffkonzentration sehr verlangsamt wurde, und zwar treten diese Verhältnisse in allen drei Reihen gleichmäßig hervor, um so deutlicher, je länger die Einwirkung der hohen Sauerstoffkonzentration einwirkte.

Versuch B. Ausgeführt mit den Stämmen A, B, 1, 40, 42, 58, 60, 62, 66, 73, 83, 88, 90, 116, 119, 122.

Der Apparat wurde geöffnet nach 6 Tagen, 12 Tagen und 30 Tagen.

Die Dauer der Oeffnungszeit, während welcher die Sporen mit dem gewöhnlichen Luftdruck in Berührung waren, betrug beim ersten Oeffnen 1 Stunde 25 Min., beim zweiten 1 Stunde 40 Min. Im Gegensatz zum Versuch A trat jetzt bei fast allen Stämmen Keimung ein, nach 6 Tagen hatten alle Stämme gekeimt, mit Ausnahme der Stämme 1, 116, 119 und 122, welche während der ganzen Versuchsdauer nicht keimten und sich, mit Ausnahme des Stammes 119, auch nachträglich bei gewöhnlichem Luftdruck nicht mehr entwickelten. Das mikroskopische Bild nach 6-tägigem Verweilen bei 20 Atmosphären war bei allen gekeimten Stämmen dasselbe:

Stets Stäbe und seltener auch Fäden, fertige Sporangien kamen nur bei 60 vor. Recht verschiedenartig war die Dicke der Oidien, bei einigen Stämmen waren sie auffallend dünn, bei anderen kamen dünne und dicke vor, besonders die Fäden waren dünn ausgebildet. Nach 12-tägigem Verweilen bei 5505 mg war ein Unterschied im mikroskopischen Bilde insofern zu bemerken, als bei einzelnen der Stämme, wie 42, 58, 60, 83, 90, A und B bereits freie Sporen ausgebildet waren, während bei anderen, so bei 40, 62, 66, 73 und 88 Sporen und Sporangien noch nicht gefunden wurden, diese Kulturen enthielten dagegen oft recht lange unseptierte Fäden. Nach 30-tägigem Verweilen bei 20 Atm. hatten alle Stämme Sporen gebildet, außer 88, dessen Kultur nur aus relativ dünnen und langen Fäden bestand [1]), die Sporenbildung war bei den meisten Stämmen normal und reichlich, einige, wie 40 und 62, enthielten vorwiegend Sporangien oder zur Sporangienbildung anschwellende Stäbe, wären also binnen kurzem auch zu einer reichlichen Sporenbildung gekommen. Bei den Stämmen A und 62 waren neben normalen freien Sporen auch solche vorhanden, die anscheinend nicht zur Reife gelangt waren, diese waren matt, bisweilen blasig angeschwollen und kamen besonders beim Stamme A reichlich vor (vergl. auch Versuch A, p. 69).

Die Ergebnisse dieser beiden Versuche stimmen wenig untereinander überein, trotzdem beide Reihen unter gleichen Bedingungen gehalten wurden, trat in der einen Versuchsreihe bei fast allen Stämmen, in der anderen bei fast keinem Stamme Keimung ein, auch bei denen nicht, die bei der einen Versuchsreihe gekeimt hatten.

Diese Differenzen sind wohl von dem Gesichtspunkte aus leicht erklärlich, daß die Sauerstoffkonzentration von 5505 mg im Liter sehr nahe am Maximum liegt, so daß kleine Schwankungen in der Ausbildung des Sporenmaterials schon zu verhältnismäßig großen Verschiedenheiten führen müssen. Im allgemeinen tritt uns doch wieder ein recht gleichartiges Verhalten aller untersuchten Stämme entgegen. Kleine Unterschiede sind bei den einzelnen Stämmen bemerkbar, so scheint bei den Stämmen A und 62 das Maximum der Sauerstoffspannung für die Sporenbildung mit 5505 mg annähernd erreicht zu sein, wenigstens waren die ausgebildeten Sporen zum Teil krank, auch das Maximum des Stammes 88, welcher nach 30-tägigem Verweilen bei 5505 mg O noch keine Sporen gebildet hatte, dürfte in derselben Gegend zu suchen sein, alle anderen untersuchten Stämme verhielten sich dagegen äußerst gleichmäßig, abgesehen von einer kleinen Differenz in der Schnelligkeit der Sporenbildung, die nach 12-tägigem Verweilen bei 5505 mg bemerkbar wurde, sich aber nach 30-tägigem Verweilen wieder ausgeglichen hatte.

Meine Resultate, nach denen das Maximum der Sauerstoffspannung für Sporenkeimung, Oidienwachstum und Sporenbildung des Bac. asterosporus noch über 5505 mg zu suchen ist, stimmen mit den

Befunden Wunds (s. oben p. 68) nicht überein, nach dem das Maximum für Sporenkeimung und Oidienwachstum annähernd bei derselben Grenze (5024 mg), das für Sporenbildung dagegen bei 276 mg, d. h. bei gewöhnlicher Luftkonzentration liegen soll. Zu berücksichtigen ist, daß Wund mit dem alten, bereits etwas geschwächten Stamm A experimentierte, welcher sich auch bei meinen Versuchen als sehr variabel erwies, indem er bei 5505 mg einmal keimte und Sporen bildete, ein ander Mal nicht keimte, auch bei einem Versuch bei 4205 mg Sauerstoff im Liter (s. unten) keimte er nicht, während er bei 2236 mg (s. unten) allerdings zum Teil keimte, aber nicht zur Sporenbildung kam. Dies verschiedene Verhalten, welches wahrscheinlich schon durch die geringen Schwankungen in der Ausbildung der Morphoden bewirkt sein kann, ist auch aus den Wundschen Versuchen zu ersehen. Wund beobachtete bei Bestimmung des Maximum der Sauerstoffspannung für das Oidienwachstum bei 1336 mg im Liter ein gegenüber der Schnelligkeit des Oidienwachstums bei gewöhnlicher Luftkonzentration um das $2^1/_2$-fache verlangsamtes, bei 2163 um das $3^1/_2$-fache verlangsamtes Oidienwachstum, bei 3002 und 4317 mg trat überhaupt kein Wachstum ein, während bei 5024 mg wieder Oidienwachstum beobachtet wurde und zwar war die Schnelligkeit der Koloniebildung bei letzterer Konzentration größer ($2^1/_2$mal verlangsamt) als bei 2162 mg ($3^1/_2$mal verlangsamt).

2. und 3. Versuche bei einem Sauerstoffgehalt von 4205 und von 2236 mg im Liter.

Nachdem durch den eben beschriebenen Versuch gefunden war, daß die meisten Stämme des Bac. asterosporus bei einem Gehalt von 5505 mg Sauerstoff im Liter noch keimten, sollte nun durch diese Versuchsreihen annähernd festgestellt werden, nach welcher Zeit, verglichen mit den unter gewöhnlicher Sauerstoffpression befindlichen Kulturen, bei den unter erhöhtem Sauerstoffdruck gehaltenen Kulturen 1) die Sporenkeimung, 2) die erste sichtbare Kolonie, 3) die erste fertige Spore im Sporangium und 4) die erste freie Spore zu beobachten war.

Zu diesem Zwecke wurden alte reife Sporen 1 Minute lang auf 100° erhitzt, um sie von den vegetativen Formen zu befreien und auf Asparagin-Agar mit möglichst wenig Kondenswasser geimpft. Je eins dieser Röhrchen blieb als Kontrolle unter gewöhnlicher Sauerstoffkonzentration, das andere wurde sofort nach der Impfung unter Druck gesetzt. Im Druckraume wurde auch hier die Kohlensäure mittels verdünnter Kalilauge absorbiert. Der Druckraum wurde dann von Zeit zu Zeit geöffnet, um die Entwickelung der Kultur zu untersuchen; obgleich dies mit der möglichsten Schnelligkeit geschah, konnte doch nicht vermieden werden, daß die Röhrchen wieder einige Minuten unter gewöhnliche Sauerstoffspannung gebracht wurden, wie lange dies dauerte, ist bei der jedesmaligen Oeffnung bemerkt worden. Daß durch diesen Konzentrationswechsel ein schädigender Einfluß auf die Entwickelung ausgeübt wird, ist nicht wahrscheinlich, denn ein solcher trat auch nicht hervor, wenn die im Vakuum gehaltenen Kulturen einem häufigen und rasch erfolgenden Konzentrationswechsel ausgesetzt wurden (s. unten p. 72—73); ebenso wie bei letzteren Versuchen die Entwickelung dadurch, daß die Individuen von Zeit zu Zeit einer günstigeren Sauerstoffkonzentration ausgesetzt waren, etwas begünstigt wurde, dürfte auch bei diesen Versuchen mit erhöhter Sauerstoffkonzentration die Entwickelung vielleicht etwas begünstigt worden sein. Im übrigen spielen diese Fragen, da es hier speziell auf den Vergleich der Stämme ankommt, in diesem Falle weiter keine Rolle.

Tabelle

		I. 276 mg Sauerstoff im Ltr. = Konzentration der Luft				II. 2236 mg Sauerstoff im Ltr. = 7,5 kg Ueberdruck bei 28°						
		Keimung trat ein zwischen .... Stunden	Erste Koloniebildg. bemerkbar nach .... Stdn.	Erste Spore im Sporangium beobachtet nach .... Stunden	Erste freie Spore beobachtet nach .... Stunden	Keimung[1]) nach Stunden 76	148	268	556	Koloniebildung beobachtet nach ... Stunden	Erste Spore im Sporangium beobachtet nach .... Stunden	Erste freie Spore beobachtet nach .... Stunden
1	Stamm A (Originalkultur)	30—64	60	110	125	2	2·	2	2	—	—	—
2	„ B („B. asterosporus α" Haselhoff et Bredemann	10—25	23	42	60	3				76		148
3	Stamm 1 Java	20—64	48	90	120	2	2	2	2	—	—	—
4	„ 40 Wyk	12—24	46	48	54	2	3	3	3	—	—	—
5	„ 42 Holstein	bis 25	35	46	54	1	3	3	3	—	—	—
6	„ 58 Teneriffa	20—46	35	48	54					—	—	
7	„ 60 Kiautschou	25—46	46	48	54	2	2	2	2	—	—	—
8	„ 62 Samoa	12—25	23	46	54							
9	„ 66 Hessen	12—25	23	42	60	3				76		143
10	„ 73 Brandenburg		28	46	54	1	1	0[2])	0	—	—	—
11	„ 75 Brandenburg					1	1	1	1	—	—	—
12	„ 77 Illinois		23	46	54	1	1	1	1	—	—	—
13	„ 38 Marburg	bis 46	35	54	60	4				76	76	148
14	„ 86 Samoa	„ 25	23	46	54	0	2	2	2	—	—	—
15	„ 88 Marburg		23	40	46	3	3	3	3	—	—	—
16	„ 90 Genua	„ 25	28	46	54	3	3	3	3	—	—	—
17	„ 116 Marokko	„ 25	23	40	48							
18	„ 119 Hammerfest	15—24	30	48	60	2	3	3	3	—	—	—
19	„ 122 Japan	14—24	20	44	48	3	4			268	148	148
20	„ 123 Japan	14—24	24	44	48	2	3	3	3	—	—	—
21	„ 126 Japan	14—24	20	48	54	3	4			268	148	148

1) Da nur nach 76, 148, 268 und 556 Stunden (2236 mg) resp. nach 72, 192, 312 beobachtet wurde, konnte der genaue Eintritt der ersten Keimung, der Koloniebildung betreffenden Beobachtungstagen. Bei der Keimung bedeuten die unter den betreffenden gekeimt, 2 = ca. die Hälfte der Sporen gekeimt, 3 = die meisten Sporen gekeimt, Beobachtungsergebnisse der ersten Versuchsreihe in () gesetzt.

2) Bei diesem Stamme trat allerdings bei vereinzelten Sporen Keimung ein, doch vereinzelte normal aussehende Stäbe gefunden, bei der zweiten hatten die wenigen vor- keine mehr gefunden.

Die Versuchsreihe bei 2236 mg Sauerstoff im Ltr. (= 7,5 kg Ueberdruck bei 28°) wurde geöffnet

zum 1. Male nach	76	Stunden =	3	Tage	(48 Min. lang)
„ 2. „ „	148	„ =	6	„	(57 „ „)
„ 3. „ „	268	„ =	11	„	(53 „ „)
„ 4. „ „	556	„ =	23	„	

Die Versuchsreihe bei 4205 mg Sauerstoff im Ltr. (= 15 kg Ueberdruck bei 28°) wurde geöffnet

zum 1. Male nach	72	Stunden =	3	Tage	(52 Min. lang)
„ 2. „ „	192	„ =	8	„	(40 „ „)
„ 3. „ „	312	„ =	13	„	(33 „ „)
„ 4. „ „	532	„ =	22	„	

Die Temperatur während der ganzen Versuchsdauer betrug gleichmäßig 28°.

Nachfolgend seien die Beobachtungen der Einfachheit halber tabellarisch zusammengestellt; in der Tabelle sind die Ergebnisse der Versuche bei 5505 mg noch einmal kurz registriert (siehe Tabelle II oben).

II.

III. 4205 mg Sauerstoff im Ltr. = 15 kg Ueberdruck bei 28°							IV. 5505 mg Sauerstoff im Ltr. = 20 kg Ueberdruck bei 28°					
Keimung[1]) nach Stunden				Koloniebildung beobachtet nach .... Stunden	Erste Spore im Sporangium beobachtet nach .... Stunden	Erste freie Spore beobachtet nach .... Stunden	Keimung[1]) nach Stunden			Koloniebildung beobachtet nach .... Stunden	Erste Spore im Sporangium beobachtet nach .... Stunden	Erste freie Spore beobachtet nach .... Stunden
72	192	312	532				140 (168)	290 (288)	720 (720)			
0	0	0	0	—	—	—	4			140	290	290
							(0)	(0)	(0)	(—)	(—)	(—)
2	3	4		192	312	312	4			140	290	290
							(3)	(4)		(288)	(288)	(288)
0	0	0	0	—	—	—	0	0	0	—	—	—
							(0)	(0)	(0)	(—)	(—)	(—)
1	1	2	2	—	—	—	4			140	—	—
1	1	0	0 [2])	—	—	—	4			140	290	290
0	3	3	3	192	—	—	4			140	290	290
							(0)	(0)	(0)	(—)	(—)	(—)
0	1	1	1	—	—	—	4			140	290	290
							(4)			(168)	(168)	(168)
2	3	4		72	192	312	4			140	720	720
							(0)	(0)	(0)	(—)	(—)	(—)
1	2	2		—	—	—	4			140	720	720
1	1	1	1	—	—	—	4			140	720	720
1	1	1	1	—	—	—	(0)	(0)	(0)	(—)	(—)	(—)
1	1	1	1	—	—	—	(0)	(0)	(0)	(—)	(—)	(—)
0	0	0	0	—	—	—	4			140	290	290
1	1	1	1	—	—	—						
0	1	1	1	—	—	—	4			140	—	—
1	1	1	1	—	—	—	4			140	290	290
							(0)	(0)	(0)	(—)	(—)	(—)
2	3	4		192	312	312	0	0	0	—	—	—
							0	0	0	—	—	—
							0	0	0	—	—	—

und 532 Stunden (4205 mg) oder nach 140 (168), 290 (288), 720 (720) Stunden (5505 mg) etc. nicht festgestellt werden, sondern nur der jeweilige Stand der Entwickelung an den Beobachtungstagen angegebenen Zahlen 0 = keine Keimung, 1 = vereinzelte Sporen 4 = keine ungekeimten Sporen mehr gefunden. — In Reihe IV (5505 mg) sind die

gingen die Oidien anscheinend wieder zugrunde: bei der ersten Beobachtung wurden kommenden Oidien ein krankhaftes Aussehen und bei der dritten Beobachtung wurden

Wenn auch zwischen den einzelnen Stämmen bisweilen kleine Schwankungen in ihrem Verhalten gegen die verschiedenen Sauerstoffspannungen zu beobachten sind, so sind diese Schwankungen zwischen den verschiedenen Stämmen doch im allgemeinen nicht größer als die, die innerhalb ein und desselben Stammes vorkommen können (s. Reihe IV).

Trotzdem natürlich durch diese Versuche nur ein geringer Beitrag zur Charakterisierung der Species gegeben ist, da die Versuche zu wenig zahlreich sind, so scheint es doch, als ob die Angaben Wunds (24) über das Maximum der Sauerstoffspannung für Sporenkeimung und Oidienwachstum annähernd richtig sind, während die Angaben über das Maximum der Sporenbildung korrigiert werden müssen, ebenso wie die über das Minimum der Sauerstoffspannung für alle Morphoden.

Man kann nach den bisherigen Erfahrungen sagen, daß jetzt die Kardinalpunkte für Sporenkeimung, Oidienwachstum und Sporenbildung folgende sind:

Minimum: fehlt.
Maximum: nicht viel über 5500 mg O im Ltr.
Optimum (nach Wund) für Sporenkeimung und Oidienwachstum zwischen 70 und 276 mg.
" " " " Sporenbildung bei 276 mg (Luft).

Besonders interessant ist die außerordentliche Latitude, die also für alle Morphoden zwischen 0 und (über) 5500 mg Sauerstoff im Liter liegt und die so groß bislang nur für den Bac. asterosporus bekannt ist.

Nach Beendigung der Druckversuche wurden die Kulturröhrchen in gewöhnliche Sauerstoffspannung zurückgebracht.

Die 23 Tage lang bei 2236 mg Sauerstoff im Liter gehaltenen Kulturen entwickelten sich an der Luft sehr kräftig. Nach 30 Stunden waren auf allen Röhrchen kräftige Kulturen gewachsen, mit Ausnahme von Stamm 1 und 73, bei welch beiden Stämmen erst nach 4 Tagen ein kräftiger Belag entstanden war. Nach 6-tägigem Stehen bei 28° waren in allen Kulturen reichlich Sporen vorhanden, außer bei den Stämmen A und 1, beide hatten eine dicke Kultur gebildet, dieselbe bestand nur aus vegetativen Formen, beim Stamm A vorwiegend aus sehr vielgliedrigen Ketten, beim Stamm 1 aus meist langen unseptierten Fäden, erst nach weiteren 8 Tagen enthielten beide Kulturen reichlich Sporen.

Die 22 Tage lang bei 4205 mg Sauerstoff im Liter gehaltenen Kulturen entwickelten sich ebenfalls nachträglich an der Luft sehr kräftig; verzögert war die Keimung beim Stamm A, bei welchem erst nach 3 Tagen Keimung eintrat, beschleunigt war sie bei den Stämmen 42 und 83, welche beide nach 36 Stunden bereits reife Sporangien enthielten. Bei den Stämmen, welche unter Druck gekeimt waren, aber keine Sporen ausgebildet hatten, waren nach 36-stündigem Verweilen an der Luft bis 28° reichlich freie Sporen vorhanden. Dieselben waren in ganz normaler Weise ausgebildet, eine Ausnahme machte Stamm B, nach 36-stündigem Verweilen an der Luft fanden sich sowohl Sporangien von gewöhnlicher bauchiger Form als auch solche von rein stäbchenförmiger Gestalt, wie letztere auch im Druckraume beobachtet worden waren, die bauchigen Sporangien enthielten dicke, große Sporen, die schmalen schmale Sporen, und dementsprechend fanden sich nachher auch breite und schmale reife Sporen vor.

Es wurde überhaupt öfter beobachtet, z. B. auch bei den Versuchen bei 2236 mg, daß die bei höheren Sauerstoffkonzentrationen ausgebildeten Sporangien und die in ihnen entstehenden Sporen von auffallend schmaler Gestalt waren.

Hinsichtlich der Speicherung von Reservestoffen unter höheren Sauerstoffkonzentrationen konnten eingehende Untersuchungen deshalb nicht vorgenommen werden, weil es darauf ankam, die Kulturen schnell wieder in den Druckraum zurückzubringen. Glykogen wird unter höheren Sauerstoffpressionen höchstens in geringen Mengen in nicht zu jungen Stäben gespeichert, bei der Sporenbildung aber völlig verbraucht, deshalb sind die bei höheren Sauerstoffkonzentrationen entstandenen Sporangien stets glykogenfrei, während die unter normalen Verhältnissen gebildeten oft noch reichlich Glykogen enthalten, meist bedeutend reichlicher als die Stäbe, selbst wenn die Spore schon fertig ausgebildet ist. Volutin war leicht nachweisbar; soweit die Kultur in ihrer Entwickelung einigermaßen weit fortgeschritten war, fand es sich in jüngeren Stäben oft in ganz winzigen, in älteren und auch oft in jungen Sporangien in ganz dicken Kugeln vor.

Anhang: Versuche über die Einwirkung des Druck- bezw. Konzentrationswechsels auf die Sporenbildung.

Kürsteiner (15) kritisiert in seinen „Beiträgen zur Untersuchungstechnik obligat anaërober Bakterien“ die Versuchsmethodik, welche Wund (24) zur Untersuchung des Entwickelungsganges eine Reihe „aërober“ Bakterienspecies unter verminderter Sauerstoffspannung zum Zwecke der Feststellung der Kardinalpunkte der Sauerstoffkonzentration für Sporenkeimung und Sporenbildung dieser Species benutzte. Wund unterwarf seine Kulturen, indem er alle 2—3 Tage das Kulturvakuum zum Zwecke einer mikroskopischen Untersuchung der Agarröhrchen öffnete, einer schnell erfolgenden Druckänderung und setzte sie während der Unter-

suchung eine Zeitlang dem normalen Sauerstoffzutritt aus. „Von wesentlichem Einfluß wird nach Ansicht des Herrn Prof. Meyer dieses Verfahren nicht gewesen sein, in einigen Fällen konnte es vielleicht dazu geführt haben, daß die Minima der Sauerstoffkonzentration etwas nach oben verschoben worden sind, da die Sporen, eventuell die Oidien, die bessere Sauerstoffkonzentration von Zeit zu Zeit genießen konnten. Vorzüglich für die Sporen wird das aber, wie gesagt, kaum von Belang gewesen sein. Eine wesentliche Schädigung der in Flüssigkeit liegenden Sporen durch den schnellen Druckwechsel möchte Herr Prof. Meyer auch nicht annehmen. Aufgefallen ist uns eine schädigende Wirkung der Konzentrations- und Druckwechsel nicht". Kürsteiner spricht die Ansicht aus, daß „der Umstand, daß die Kulturen alle 2 Tage einer schnell erfolgenden Druckänderung ausgesetzt worden sind, indem sie aus dem Kulturraum etwa 1 Stunde entfernt und in Luft untersucht wurden ... von nicht zu unterschätzendem Einflusse gewesen sein dürfte."

Um den Einfluß des Druck- bezw. Konzentrationswechsels festzustellen, wurden, wie das in der Wundschen Arbeit auch schon angekündigt war, einige Versuche unternommen.

Es wurden gleichzeitig 3 Versuchsreihen in 3 verschiedenen Kulturvakua angesetzt:

a) blieb während der ganzen Versuchsdauer geschlossen mit einmaliger kurzer Unterbrechung zum Zuführen von neuem Sauerstoff für den verbrauchten,

b) wurde ebenso behandelt, nur wurde in dem Kulturvakuum die gebildete und eventuell schädlich wirkende Kohlensäure mit Kalilauge absorbiert,

c) wurde täglich geöffnet und nach ca. $^1/_4$ Stunde wieder ausgepumpt.

Das Material wurde in der Weise vorbereitet, daß 1 Minute auf 100° erhitzte Sporen auf Asparagin-Agar geimpft und, nachdem Stäbe entstanden waren (nach 24 Stunden bei 28°), diese nochmals auf frischen Agar übertragen und 24 Stunden lang bei 28° belassen wurden. Durch sorgfältiges Durchmustern der Kultur wurde festgestellt, daß ungekeimte Sporen nicht mehr vorhanden waren, daß die Kulturen also nur aus Oidien bestanden. Diese erst wurden dann wiederum auf Asparagin-Agar überimpft, die Röhrchen noch 3 Stunden bei 28° belassen und dann ins Vakuum gebracht, welche sofort auf den gewünschten Druck — 2 mg Sauerstoff im Liter — eingestellt wurden.

Versuch I.

Es wurden also 3 Kulturvakua angesetzt, jedes enthielt 3 Röhrchen, je eines der Stämme A, 1 und 62. Die Gefäße a und c wurden bis auf 22,9 mm bei 20° = 2 mg O im Liter ausgepumpt,

Gefäß b, welches 23-proz. Kalilauge enthielt, wegen der veränderten Tension des Wasserdampfes aus 30 KOH + 100 Wasser auf 19,4 mm bei 20° = 2 mg O im Liter. Alle Gefäße wurden bei 28° gehalten.

Gefäß c wurde täglich geöffnet, a und b einmal nach 5 Tagen und sofort wieder auf den früheren Druck eingestellt.

Nach 10 Tagen wurden alle 3 Gefäße geöffnet und untersucht:

Gefäß a (immer mit einer Ausnahme geschlossen).

Stamm A: kräftige Kultur, meist Stäbe von normalem Aussehen, daneben seltene Sporangien und freie Sporen.

Stamm 1: kräftige Kultur, meist freie Sporen, daneben Sporangien und Oidien.

Stamm 62: sehr kräftige Kultur, fast nur freie Sporen.

Gefäß b (mit einer Ausnahme immer geschlossen, CO_2 durch 23-proz. KOH absorbiert.)

Stamm A: kräftige Kultur, nur Stäbe.

Stamm 1: ebenso.

Stamm 62: kräftige Kultur, alle Morphoden, meist Sporen.

Durch die starke Kalilauge war bei allen Röhrchen der Agar fast ausgetrocknet, infolgedessen sind die Entwickelungen anormal, indem die zuerst kräftig wachsenden Kulturen durch Eintrocknen an ihrer Weiterentwickelung gehemmt wurden.

Stamm A: kräftige Kultur, meist Sporangien, auch viel freie Sporen, daneben noch Oidien.
Stamm 1: Sehr kräftige Kultur, meist Sporen, einige Sporangien und Oidien.
Stamm 62: Sehr kräftige Kultur, fast ausschließlich Sporen.

Versuch II.

Anordnung genau wie bei I, nur erhielt Gefäß b anstatt 23-proz. Kalilauge 7-proz. Natronlauge. Zum Versuch dienten die Stämme 1, 58, 75.

Mikroskopischer Befund nach 10 Tagen:

Gefäß a (immer mit einer Ausnahme geschlossen).
Stamm A. Ziemlich kräftige Kultur, meist Stäbe, seltener auch Sporangien und Sporen.
Stamm 58. Sehr kräftige Kultur, meist Sporangien, auch viele Sporen.
Stamm 75. Kräftige Kultur, meist Sporen.

Gefäß b (immer mit einer Ausnahme geschlossen, CO^2 durch 7-proz. NaOH absorbiert; ein wenig ausgetrocknet, aber noch relativ feucht).
Stamm A. Genau wie bei a.
Stamm 58. Meist Sporen, seltener Sporangien.
Stamm 75. Genau wie bei a.
Stamm 1. (Kontrolle zu Versuch I) kräftige Kultur, meist Sporangien und auch freie Sporen.

Gefäß c (täglich geöffnet).
Stamm A. Schwach entwickelt, keine Sporen, dagegen neben normalen Oidien solche mit anormalen fast kugeligen Anschwellungen[1]).
Stamm 58. Sehr kräftige Kultur, alle Morphoden, viele freie Sporen.
Stamm 75. Sehr kräftige Kultur, meist Sporen.

In allen 3 Reihen waren die Kulturen also ziemlich gleich entwickelt. Es sieht hier also so aus, als ob der Druck- und Konzentrationswechsel die Kulturen nicht geschädigt habe. Der wiederholte Sauerstoffzutritt scheint im Gegenteil, wie das Prof. Meyer in der Wundschen Arbeit auch vermutete, die Entwickelung begünstigt zu haben, denn diejenigen Kulturen, die täglich auf kurze Zeit in eine höhere Sauerstoffkonzentration gelangt waren, zeigten eine kräftigere Vermehrung der Oidien, kamen dementsprechend dann auch etwas später zur Sporenbildung. Wir müssen übrigens bei unserer Versuchsanstellung berücksichtigen, daß die Verhältnisse in den geschlossenen Gefäßen (a und b) nicht unwesentlich abweichen von denen, die in den täglich geöffneten (c) Gefäßen herrschten, da die 3 Röhrchen in den geschlossenen Räumen verhältnismäßig viel Sauerstoff absorbieren. Man müßte, wenn man diese Versuche genauer machen wollte, ein größeres Gefäß nehmen (die benutzten faßten 1200 ccm) und dürfte auch diese nicht immer geschlossen lassen.

Im übrigen ist aber zu beachten, daß gerade Bac. asterosporus von der Sauerstoffpression verhältnismäßig unabhängig ist und daß deshalb die Versuche doch einen verhältnismäßig guten Beweis dafür erbringen, daß der Wechsel der Sauerstoffpression keine wesentliche Schädigung bewirkt.

IV. Vergleichende Untersuchungen über die Widerstandsfähigkeit der Sporen der verschiedenen Stämme gegen Erhitzen auf 100°.

(Bestimmung der Tötungszeit der Sporen bei 100°.)

Die Tötungszeit der Sporen des Bac. asterosporus bei 100° wurde von Ellis (19) und Blau (6) als zwischen 7 und $7^1/_2$ Minuten liegend gefunden — bestimmt am Originalstamm (Stamm A).

Ich führte die Bestimmung der Tötungszeit der Sporen in derselben Weise aus wie Ellis und Blau und wie es im „Praktikum der botanischen Bakterienkunde“ mitgeteilt wird: sterile Reagenzgläser von 8—9 cm Länge und 8—9 mm innerer Weite wurden ca. $^1/_2$ cm hoch mit sterilem

1) Wohl zufällige Erscheinung, die mit der Druck- und Konzentrationsänderung nicht zusammenhängt (vergl. Versuch I).

Wasser beschickt, im Autoklaven sterilisiert und in dem Wasser ca. 4 Wochen alte auf D-Agar entstandene Sporen der mindestens 3 Monate vorkultivierten Stämme gleichmäßig verteilt. Die Aufschwemmungen wurden dann sofort im siedenden Wasserbade verschieden lange Zeit erhitzt; die angegebenen Zeiten beziehen sich vom Augenblick des Eintauchens an. Nach dem Abkochen wurde sofort in kaltes Wasser gestellt und nach dem Abkühlen die ganze obere Partie über dem Wasser sehr sorgfältig abgeglüht, um alle etwa oben sitzenden nicht im Wasser erhitzten Sporen abzutöten. Hierauf wurde der ganze Inhalt der Röhrchen auf die Oberfläche eines D-Agar-Schrägrohres ausgegossen, welches bei 28° gehalten wurde. Wenn nach 14-tägigem Verweilen bei dieser Temperatur keine Entwickelung eingetreten war, wurden die Sporen der betreffenden Kultur als abgetötet angesehen.

Die Resultate der Sporentötungsversuche bei 100° sind in nachfolgender Tabelle III zusammengestellt, + bedeutet Entwickelung, — keine Entwickelung, also abgetötet (siehe Tabelle III, p. 78).

Die Versuche, die bisher mit Bac. asterosporus gemacht waren, waren deshalb nicht genügend, weil Ellis (s. Praktikum der botan. Bakterienkunde p. 129) und Blau (6) bei ihren Versuchen nicht über 8 Minuten hinausgegangen waren und nur wenige Versuche gemacht hatten. Der Originalstamm, den ich untersuchte, zeigte eine maximale Tötungszeit, die zwischen 10 und 11 Minuten lag, die minimale lag zwischen 7 und 8 Minuten.

Die Untersuchungen mit den verschiedenen Stämmen geben merkwürdigerweise sehr verschiedene Resultate, so daß die maximalen Tötungs-

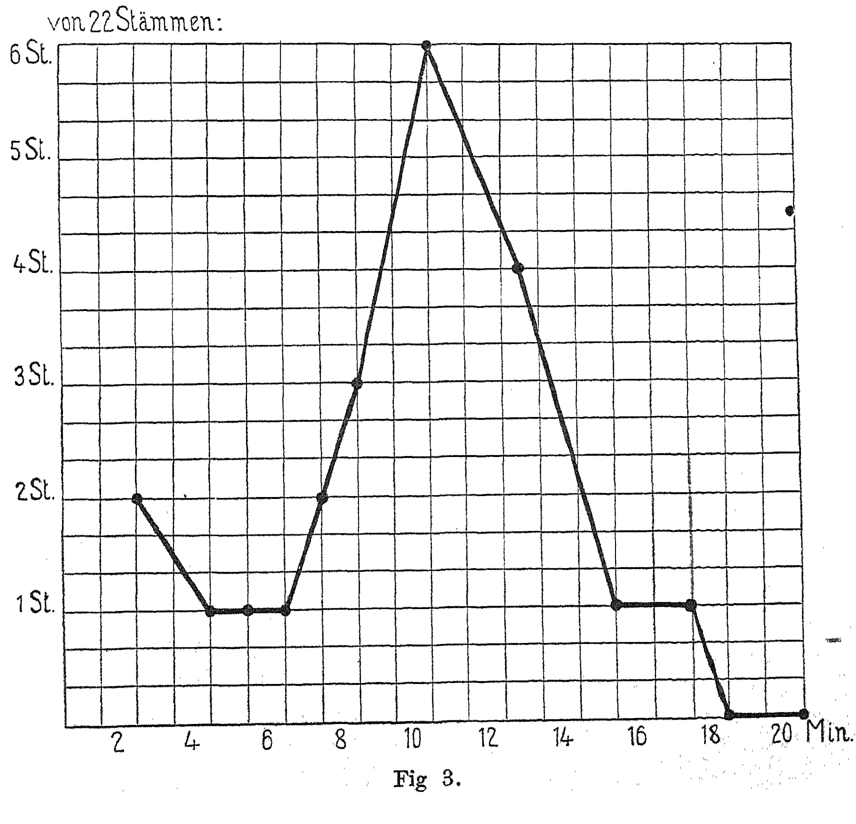


Fig 3.

Tabelle III.

100°	Stamm 1 Buitenzorg	Stamm 40 Wyk a. Föhr	Stamm 58 Teneriffa	Stamm 60 Kiautschou	Stamm 62 Samoa	Stamm 66 Kassel	Stamm 73 Brandenburg	Stamm 75 Brandenburg	Stamm 77 Illinois	Stamm 83 Marburg	Stamm 86 Samoa	Stamm 90 Genua	Stamm 116 Marokko	Stamm 119 Hammerfest	Stamm 122 Tokio	Stamm 123 Tokio	Stamm 126 Tokio	Stamm 131 Paramaribo	Stamm A Originalstamm	Stamm B („B. asterosporus“)	Stamm C („B. clostridioides“)	Stamm D („B. dilaboides“)
2 Min.		+					+		+	+	+	+			+							
3 „		−				− −	−			+	−	−										
4 „		− −				− + −			−	− +	− −	− −			+							
5 „		−			+	+ − −	− −	+		− −	− −	− −	+	− +	− −	+	+ +			+	+ +	−
6 „	+	− − −	+ −	+ −	+ +	− − −	− − − −	+ − −	− +	− − − −	− − −	− − − −	− + +	− + +	− − − −	− −	+ − +	+	+	+ − −		−
7 „	−		−	+	+ + +	−	−	− +		−	−	+ −	+ −	− +	+ +	+	− +		+	+ +	− +	−
8 „	− −	+	− + −	+ − −	+ − +	− − − −	− − −	− − + −	−	− − −	− −	− − −	− − −	+ − −	− − −	+ +	+ − −	−	− −	− − −	−	+
9 „	−		−	−	−			− −					− −	−	−	−	−		+ −	+		−
10 „	− + +	−	+ + − −	− − − −	− + − − −	−	−	− + + − +	−	−			− + +	+ − +	+ +	− −	− −	−	− − + −	+ −	− −	− +
11 „	−		−	−	−			−											−			
12 „		−	−	−		−	−	+ −	−	−			+ −	+ −	− −	+ −	− −	+	−	−		− −
14 „		−	−		−	−	−	−	−				−	−	−	−	−		−	−		
15 „								+ −					− −	− −	− −	− −	− −		−		−	−
16 „		−	−	−		−	−		−	−										+ −		
18 „		−	−	−		−	−		−	−										−		
20 „								−					−		−	−	−		−			−

zeiten zwischen 2—3 Minuten und zwischen 16—18 Minuten schwanken. Es ist möglich, daß die höchsten Maxima zwischen 14—18 Minuten durch Versuchsfehler entstanden sein könnten, aber es ist dies kaum wahrscheinlich.

Die Kurve (Fig. 3) gibt einen einfachen Ueberblick über die Lage der Tötungszeiten bei den verschiedenen Stämmen. und es zeigt sich.

daß die Mehrzahl der Stämme eine Tötungszeit besitzt, die zwischen 10 und 11 Minuten liegt. Daß die niedrigen Tötungszeiten durch die Vorbehandlung der betreffenden Stämme zustande gekommen sein könnte, ist ja nicht abzuweisen, aber es ist doch dabei zu beachten, daß alle diese Stämme direkt aus Erde gezüchtet sind. Wir müssen so also annehmen, daß die Tötungszeit der Sporen dieser Species zwischen 2 und 18 Minuten schwankt. Betrachten wir die Schwankungen bei den Versuchen, die an einem Stamme vorkommen, so sehen wir jedoch, daß in manchen Fällen die Schwankungen der Tötungszeiten bei den verschiedenen Proben sich innerhalb ähnlicher Grenzen bewegen, denn wir sehen z. B. beim Stamme 77, daß das Absterben zwischen 6 und 15 Minuten stattfindet, bei dem Stamme B zwischen 6 und 16 Minuten, bei 119 zwischen 4 und 12 Minuten.

Im allgemeinen wird man erwarten können, daß ein Stamm, der zu Bac. asterosporus gehört, seine Tötungszeit zwischen 7 und 13 Minuten liegen hat, wir dürfen aber natürlich einen Stamm, welcher bei 2 Minuten abstirbt und einen Stamm, der zwischen 15 und 16 Minuten abstirbt, immer noch zum Bac. asterosporus rechnen, da ja alle Eigenschaften übereinstimmen und ja auch hier die Schwankungen zwischen den Stämmen nicht größer sind, als sie ein Stamm bei den Versuchen direkt zeigt.

Bemerkenswert dürfte vielleicht sein, daß sich diejenigen Stämme, die sich hinsichtlich der Schnelligkeit des Entwickelungsganges von Spore zu Spore, ihrer Sporengröße und ihrer Kardinalpunkte der Sauerstoffkonzentration für die Morphoden, ebenso wie auch hinsichtlich der Schnelligkeit der Verflüssigung von Gelatine als unzweifelhaft „geschwächt“ erwiesen hatten (Stamm A, C, D, E und 1), hinsichtlich der Widerstandsfähigkeit ihrer Sporen gegen Erhitzen auf 100° nicht als „geschwächt“ zeigen, ihre Tötungszeit liegt durchaus innerhalb der für die meisten Stämme häufigsten Grenzen von 7—13 Minuten.

Kapitel III.
Die Bindung des atmosphärischen Stickstoffes durch Bac. asterosporus.

Zu der Vermutung, daß auch der Bac. asterosporus die Fähigkeit der Bindung des freien Stickstoffes besäße, wurde ich veranlaßt, als ich im Herbste 1905 bei der Untersuchung der aus verdorbenen Konserven isolierten Form, welche Haselhoff und ich (14) als „Bac. asterosporus α“ (jetziger Stamm B) beschrieben haben, die Beobachtung machte, daß diese Form in der stickstofffreien Winogradskyschen Nährlösung genau so kräftig wuchs und gärte, wie die „stickstoffsammelnden Clostridien“, welche wir gleichzeitig untersuchten (13). Zu einer näheren Verfolgung dieser Beobachtung konnte ich damals nicht kommen. Dagegen wurde an einer zweiten, gleichfalls aus Konserven gezüchteten Form, welche Haselhoff und ich Bac. clostridioides benannten (jetziger Stamm C) und welche Form ebenfalls die Fähigkeit besaß, in stickstofffreier Nährlösung Zucker zu vergären, in dieser stickstofffreien Nährlösung eine deutliche Stickstoffzunahme festgestellt, es wurden damals gefunden — Winogradskysche Nährlösung nach 4-wöchentlicher Kultur bei 28° —. (Siehe Tabelle p. 80.)

Als nun bei meinen jetzigen Untersuchungen dieser letztere Stamm, der „Bac. clostridioides“ (Stamm C), sich als identisch mit dem Bac. asterosporus herausstellte, war ja für uns, die Richtigkeit dieser Beobachtung vorausgesetzt, kein Zweifel, daß auch Bac. asterosporus

	Menge der Nährlösung ccm	Gefunden N mg	Zunahme pro 1 g Dextrose mg N
N-Strom hindurch geleitet			
Geimpft	450	3,685	0,28
"	500	6,449	0,52
Nicht geimpft	450	2,148	—
" "	450	2,806	
Unter Zutritt der Luft gezüchtet			
Geimpft	450	5,012	0,44
"	450	3,580	0,28
Nicht geimpft	500	2,506	—
" "	450	1,969	

zu den Stickstoffsammlern gehörte. Ich habe, um die Frage sicherzustellen, die Verhältnisse noch einmal näher verfolgt und vorzüglich die Frage zu entscheiden versucht, inwieweit die Stickstoffbindungsfähigkeit den verschiedenen Stämmen zukommt.

Als ich meine selbst isolierten Stämme, die bereits ca. 1½ Jahre lang in Kultur waren, auf die Fähigkeit, in stickstofffreier Nährlösung zu wachsen, hin prüfte, war das Resultat ein negatives, nur die Stämme 116 (Marokko), 119 (Hammerfest), 40 (Wyk) und 123 (Tokio) riefen in stickstofffreier Nährlösung Gärung hervor, erstere beiden verhältnismäßig kräftig, letztere beiden schwach. Von den Originalstämmen gärten in stickstofffreier Nährlösung[1]) mit Ausnahme des Stammes B („Bac. asterosporus α“) keine mehr, auch der Stamm C („Bac. clostridioides“), welcher 1905 in stickstofffreier Nährlösung noch lebhafte Gärung hervorrief und auch Stickstoff assimilierte, wuchs jetzt nicht mehr in derselben.

Dieser eingetretene Verlust der Fähigkeit in stickstofffreier Nährlösung zu wachsen, überraschte mich nach den Erfahrungen, die ich mit dem Bac. amylobacter gemacht hatte (7) nicht, und ich versuchte dasselbe Mittel zur Regeneration dieser Fähigkeit anzuwenden, welches sich beim Bac. amylobacter als so hervorragend günstig zur Wiederhervorrufung der Fähigkeit in stickstofffreier Nährlösung zu wachsen und in derselben Stickstoff zu binden, erwiesen hatte, nämlich die Kultur auf Erde enthaltenden Substraten. Ich verfuhr genau in derselben Weise wie beim Bac. amylobacter: nicht zu geringe Mengen von 48 Stunden alten Kulturen des Bac. asterosporus auf D-Agar — benutzt wurden die Stämme A, B und C — wurden in sterile Gartenerde geimpft, welche ¾ Stunden lang bei 150° im Autoklaven sterilisiert und deren absolute Sterilität selbstverständlich durch Anlegen von Kontrollkulturen geprüft war. In den mit Bac. asterosporus geimpften Erdröhrchen konnte nach 24-stündigem Verweilen bei 28° deutlich Gasbildung beobachtet werden. Die Erdekulturen blieben dann ca. 4 Wochen lang bei 28° stehen, während welcher Zeit die Erde völlig austrocknete. Wurden nun von diesen Erdekulturen kleine Mengen, etwa 1—2 g, in mit Winogradskyscher Nährlösung 6 cm hoch beschickte Reagenzröhrchen übertragen und diese bei 28° gehalten, so war nach 24 Stunden in allen eine kräftige Gärung im Gange. Diese setzte sich beim Uebertragen von dieser gärenden Kultur in neue stickstofffreie Nährlösung auch in

1) Nach allen meinen bisherigen Beobachtungen an dem Bac. asterosporus und dem Bac. amylobacter war kräftiges Wachstum, welches sich äußerlich durch kräftige Gärung bemerkbar macht, in stickstofffreier Winogradskyscher Nährlösung stets mit Stickstoffsammlung verbunden. Doch wird es, bis dieses Zusammentreffen durch sehr viele Experimente als gesetzmäßig erkannt ist, fürs erste nicht angängig sein, aus der Fähigkeit in stickstofffreier Nährlösung zu wachsen, ohne weiteres auch auf die Stickstoffbindungsfähigkeit zu schließen.

letzterer in unverminderter Stärke bis zur völligen Zersetzung der Dextrose fort. In allen Fällen wurde selbstverständlich die Reinheit der vergorenen stickstofffreien Nährlösungen durch Anlegen aërober und anaërober Plattenkulturen kontrolliert.

Durch solche vermittelst Erdpassage gekräftigten Stämme sind die Stickstoffgewinne der Kulturen 1, 2, 3 und 4 in nachstehender Tabelle erzielt worden, welche Gewinne zwischen 1,16 und 3,00 mg pro 1 g verbrauchter Dextrose schwanken.

Damit war auch der Beweis erbracht, daß der Bac. asterosporus tatsächlich imstande ist, den freien Stickstoff zu binden, und gleichzeitig war bewiesen, daß es auch, ebenso wie beim Bac. amylobacter, gelingt, die im Laufe einer längeren Kultur verloren gegangene Fähigkeit der Assimilation des elementaren Stickstoffes durch geeignete Behandlung wieder zurückzugewinnen.

Es wurde dann noch untersucht, wie sich die Stickstoffbindungsfähigkeit von solchen Stämmen erwiese, welche ganz frisch aus dem Erdboden isoliert waren, und ferner von solchen, welche sich bereits längere Zeit in Kultur befunden hatten, die aber in stickstofffreier Nährlösung noch schwach gärten. Zu letzteren Versuchen wurden die Stämme 116, 119, 123 und 40 benutzt (s. Kulturen 11, 12, 13, 14 untenstehender Tabelle IV). Zu den Stickstoffassimilationsversuchen mit frisch isolierten Stämmen dienten die Stämme 128 und 131. Beide waren in der Weise isoliert, daß kleine Mengen der betreffenden Erden in Röhrchen, die mit stickstofffreier Winogradskyscher Nährlösung beschickt waren, geimpft und die Röhrchen eine Minute ins siedende Wasserbad gestellt wurden. Nach 48-stündigem Verweilen bei 28° war in beiden Kulturen lebhafte Gärung eingetreten, mikroskopisch war nach 8 Tagen massenhaft der Bac. amylobacter nachweisbar. Es wurden dann Platten gegossen, welche sowohl anaërob, wie aërob gehalten wurden. In beiden Fällen erschien der Bac. asterosporus, auf den anaëroben Platten zusammen mit dem Bac. amylobacter, auf den aëroben zusammen mit anderen nicht weiter definierten Formen. Beim Stamm 131 wurde der Bac. asterosporus direkt von der D-Agarplatte in stickstofffreie Nährlösung übertragen, gleichzeitig natürlich auf D-Agar zur Untersuchung, ob auch wirklich nur der Bac. asterosporus vorlag. In der stickstofffreien Nährlösung trat mittelstarke Gärung ein, die sich auch beim Ueberimpfen in neue Nährlösung fortsetzte (s. No. 5 und 6 der untenstehenden Tabelle). Der Stamm 128 wurde in der Weise behandelt, daß, um zu sehen, ob die vorherige Kultivierung auf dem stark stickstoffhaltigen D-Agar etwa nachteilig auf die Stickstoffassimilationsfähigkeit einwirkte, mit der gärenden Rohkultur in stickstofffreier Nährlösung sowohl Platten von D-Agar als auch von stickstofffreiem mineralischen Agar (Winogradskysche Nährlösung ohne Kreide + 1,6 Proz. Agar) gegossen wurden. Auf beiden Nährböden erschienen die Kolonieen des Bac. asterosporus in gleicher Ueppigkeit; diejenigen von den D-Agarplatten wurden auf D-Agar, diejenigen von den stickstofffreien Mineral-Agarplatten auf stickstofffreien Mineral-Agar übertragen und von diesen Nährböden nach 48-stündiger Kultur bei 28° in stickstofffreie Nährlösung. In dieser trat in beiden Fällen relativ lebhafte Gärung ein und zwar war ein Unterschied in der Intensität derselben in beiden Fällen nicht zu beobachten. Diese gärenden stickstofffreien Nährlösungen dienten als Impfmaterial für die Stickstoffassimilationsversuche No. 7, 8, 9, 10 nachstehender Tabelle IV. In dieser Tabelle sind die analytischen Ergebnisse über die Stickstoffassimilationsversuche, welche mit den auf

Tabelle

Kultur-No.	Geimpft mit Stamm	Vorbehandlung der zum Impfen benutzten Kultur	Nährlösung (1,0 K_2HPO_4 0,2 Mg SO_4 0,01 NaCl, Mn SO_4, Fe SO_4 1000 ccm H_2O)	Bemerkungen
1	Stamm A (B. asterospor.-Origin.)	gekräftigt durch Kultur in Erde enthaltender N-freier Nährlösung (s. p. 80)	1000 ccm obiger N-freier Lösung 20 g Dextrose 10 g $CaCO_3$	Beginn der Gärung nach 2 Tagen. Nach Beendigung im $CaCO_3$-Niederschlag massenhaft Sporen
2	Stamm B (B. asterosp. α)			ebenso, außer Sporen noch Sporangien und Oidien
3	Stamm C			ebenso
4	(„B. clostridioides“ Haselhoff et Bred.)			ebenso
5	Stamm 131 (B. asterosporus aus Paramaribo)	aus der gärenden Rohkultur in N-freier Nährlösung auf D-Agarplatte gebracht, von da in N-freie Nährlösung, letztere als Impfmaterial benutzt (s. p. 81)	1000 ccm N-freie L. 20 g Rohrzucker 5 g $CaCO_3$	ebenso
6			1000 ccm N-freie L. 20 g Dextrose 5 g $CaCO_3$	ebenso
7	Stamm 128 (B. asterosporus aus Zeven [Hannover])	ebenso, aber von der D-Agarplatte erst einmal auf D-Agar übergeimpft (s. p. 80)	500 ccm N-freie L. 10 g Rohrzucker 2,5 g $CaCO_3$	ebenso, Nährlösung wird bei der Gärung milchig trübe
8			500 ccm N-freie L. 10 g Dextrose 2,5 g $CaCO_3$	Beginn nach 2 Tagen. Nach Beendigung im $CaCO_3$-Niederschlage massenhaft Sporen
9		ebenso, aber anstatt D-Agar N-freier Agar benutzt (s. p. 80)	500 ccm N-freie L. 10 g Rohrzucker 2,5 g $CaCO_3$	Die Nährlösung wird wie bei No. 7 milchig, dann schleimig, nach Beendigung am Boden ein dickes schleimiges Sediment
10			500 ccm N-freie L. 10 g Rohrzucker 2,5 g $CaCO_3$	wie bei No. 8
11	Stamm 116 Marokko	alte, in N-freier Nährlösung noch mittelstark gärende Kulturen, als Impfmaterial dienten gärende N-freie Nährlösungen (s. p. 80)	1000 ccm N-freie L. 20 g Dextrose 5 g $CaCO_3$	ebenso
12	Stamm 119 Hammerfest			ebenso
13	Stamm 123 Japan		500 ccm N-freie L. 10 g Rohrzucker 2,5 g $CaCO_3$	wie bei No. 9
14	Stamm 40 Wyk a. Föhr			ebenso, aber außerordentlich kräftige Entwickelung. Unten eine mehrere Centimeter hohe Schleimschicht, beim Schütteln wird die ganze Lösung schleimig

IV.

Dauer der Kultur und Temperatur	N-Gehalt der ungeimpften gleich behandelten Kontrollkultur Mittel aus je 2 Bestimmungen	N-Gehalt der geimpften Kultur nach Beendigung des Versuches mg	also N-Gewinn in Summa mg	Zuckerrest nach Beendigung des Versuches g	also verbrauchte Zuckermenge (D = Dextrose, R = Rohrzucker) g	auf 1 g verbrauchten Zuckers sind assimiliert mg N
7. Okt. bis 7. Nov. bei 28° 7. Nov. bis 6. März bei Zimmertemperatur	5,28	38,56	**33,28**	0,0	20,0 D	**1,16**
	5,28	65,36	**60,08**	0,0	20,0 D	**3,00**
	5,28	45,16	**39,88**	0,0	20,0 D	**1,99**
	5,28	29,05	**23,77**	0,0	20,0 D	**1,19**
13. März bis 19. Juni bei 28°	4,75	12,15	**7,40**	5,5	14,5 R	**0,51**
	5,28	12,94	**7,60**	0,0	20,0 D	**0,38**
13. März bis 20. Juni bei 28°	2,38	7,78	**7,40**	5,1	4,9 R	**1,45**
	2,64	10,83	**8,19**	0,0	10,0 D	**0,82**
13. März bis 22. Juni bei 28°	2,38	13,47	**11,09**	0,0	10,0 R	**1,11**
	2,64	13,21	**10,57**	0,0	10,0 D	**1,06**
13. März bis 23. Juni b. 28°	5,28	23,77	**18,48**	0,0	20,0 D	**0,93**
13. März bis 20. Juni b. 28°	5,28	12,68	**7,40**	8,4	11,6 D	**0,64**
13. März bis 25. Juni b. 28°	2,38	11,62	**9,24**	0,0	10,0 R	**0,92**
13. März bis 23. Juni bei 28°	2,38	16,38	**14,00**	0,0	10,0 R	**1,40**

die beschriebene Weise vorbehandelten Kulturen ausgeführt wurden, zusammengestellt. Die Stickstoffbestimmungen wurden nach der Kjeldahlschen Methode ausgeführt. Die Prüfung auf unvergorenen Zucker und die quantitative Bestimmung desselben geschah mittels Fehlingscher Lösung, in den Rohrzucker enthaltenden Nährflüssigkeiten nach vorheriger Inversion desselben mit Salzsäure, außerdem war vorherige Entfernung der gebildeten aldehydartigen flüchtigen Produkte mittels Destillation in neutraler Lösung nötig.

Die Tabelle zeigt, daß alle untersuchten Stämme des Bac. asterosporus die Fähigkeit der Bindung des atmosphärischen Stickstoffes besitzen. Durch diesen Nachweis ist die Reihe der freilebenden stickstoffsammelnden Bakterien, als deren wichtigste und verbreitetste Vertreter der Bac. amylobacter und der sogenannte Azotobacter bisher bekannt waren, um eine weit verbreitete, wohlcharakterisierte und leicht erkennbare Species vermehrt wurden.

Bei Betrachtung der obenstehenden Tabelle tritt ein durchgreifender Unterschied in der Intensität der Stickstoffbindung bei keinem Stamme deutlich hervor, auch scheint die Vorbehandlung der Kultur wenig von Einfluß zu sein, wenngleich es den Eindruck erweckt, als hätten die durch Kultur in Erde gekräftigten Stämme ein besonders großes Stickstoffbindungsvermögen aufzuweisen. Auch die Zusammensetzung der Nährlösung ist anscheinend ohne nennenswerten Einfluß, vielleicht ist, wenn man aus den drei vorliegenden Parallelreihen einen Schluß ziehen will, die Menge des auf 1 g verbrauchten Rohrzuckers assimilierten Stickstoffs etwas größer, als der auf 1 g verbrauchter Dextrose erzielte Gewinn. Es ist jedoch selbstverständlich, daß es zu sicheren Schlüssen einer größeren Reihe von Analysenergebnissen bedarf, ich werde reichlicheres Material demnächst für Bac. amylobacter bringen und hoffe, meine Untersuchungen an beiden Spezies später noch weiter ausdehnen zu können. Es kam bei diesen Versuchen vorzüglich darauf an, den Beweis zu erbringen, daß auch der Bac. asterosporus zur Stickstoffbindung befähigt ist, und daß sich die nach dieser Richtung hin untersuchten Stämme auch wieder gleichartig verhalten.

Im Anschluß an diese Untersuchungen möge auch eine frühere Arbeit von Beijerinck und van Delden (4) Erwähnung finden. Diese Forscher glaubten, daß alle Arten der Gattung „Granulabacter[1]) das Vermögen besitzen, den freien Stickstoff zu binden, allerdings vorzüglich nur in Symbiose mit dem Azotobacter chroococcum. Unter diesen Symbionten wurde besonders oft gefunden der „Granulobacter Polymyxa“, „der im Boden sehr allgemein verbreitet ist“ und 2 Varietäten dieser Form, der „Granulobacter Polymyxa var. tenax“ und „var. mucosum“, ferner beschreiben sie noch zwei andere Granulobacter, welche jede zusammen mit dem Azotobacter Stickstoff anhäufen sollten, die Granulobacter sphaericum“ und Granulobacter reptans“. Allerdings ergaben die mit diesen Formen in Reinkultur angestellten Versuche kein positives Ergebnis, für Polymyxa wurde nur erwiesen, daß die Art bisweilen unter noch nicht gut festgestellten Bedingungen ganz allein ohne gebundenen Stickstoff wachsen kann. „Da wir aber Grund haben, für alle

1) Bezüglich der Kritik der Gattung Granulobacter verweise ich auf meine demnächstige Abhandlung über Bac. amylobacter A. M. et Brdm. Das, was Beijerinck Granulobacter nennt, ist keine natürliche Gruppe, weshalb es auch keine Bedeutung hat, von einer allen Granulobacter-Arten zukommenden Stickstoffbindungsfähigkeit zu sprechen.

Granulobacter-Formen anzunehmen, daß sie unter bestimmten Bedingungen selbst in den Reinkulturen freien Stickstoff assimilieren können, können wir doch diese Versuche mit negativen Resultat noch nicht als beweisend betrachten, schließen daraus vielmehr auf einen ungenügenden Akkommodationszustand jener Formen". Die kurze diagnostische Beschreibung, die Beijerinck von dem Granulobacter Polymyxa gibt (5), läßt eine außerordentliche Aehnlichkeit seiner Species mit dem Bac. asterosporus erkennen, wenigstens passen alle zu derselben angeführten spezifischen Merkmale auf den Bac. asterosporus, wie temporär anaërobe Gärungsbakterien — Clostridien mit wenig Granulose — weicher, voluminöser Schleim — Gärungsprodukte CO_2 und H, Butylalkohol nur spurenweise und keine Buttersäure — verflüssigt die Nährgelatine — erzeugt etwas Diastase — sehr allgemein verbreitet im Boden. — Die Varietäten Tenax und Mucosum wurden so genannt, weil erstere fast mit dem Agar verwächst und weil letztere auf Glukoseagar einen aufliegenden dicken losen Schleim bildet, zwei Erscheinungen, die bei den verschiedenen Stämmen von Bac. aterosporus auch allgemein beobachtet wurden. Der Granulobacter sphaericum zeichnet sich außerdem noch durch reich verzweigte Kolonieen und durch Erzeugung eines höchst angenehmen Aromas aus, welche beiden Eigenschaften auch für den Bac. asterosporus typisch sind. Allerdings stimmt die Angabe Beijerincks über die Sporengröße der letztgenannten Form nicht mit meinen Befunden über die Sporengröße des Bac. asterosporus überein, doch ist zu berücksichtigen, daß Beijerinck die im Sporangium sitzenden Sporen maß, welche Messungen mit solchen von reifen freien Sporen nicht vergleichbar sind. Die vierte Form, der Granulobacter reptans, ist eine Zwischenform zwischen sphaericum und Polymyxa und zeichnet sich vorzüglich durch stark verzweigte, weit umherkriechende Kolonieen aus.

Alle diese Angaben sind zu unvollkommen, um nach ihnen eine Species wiedererkennen zu können. Vor allen Dingen wäre es möglich, daß alle fünf Formen weiter nichts sind, als höchstens Rassen ein und derselben Species. Beijerinck und van Delden bemerken übrigens selbst, daß alle fünf Formen vielleicht auf eine zurückgeführt werden können, indem sich nämlich bei ihren Versuchen herausstellte, „daß die zuerst von den Rohanhäufungen isolierten Formen bei der fortgesetzten Ueberimpfung in den Reinkulturen ihren ursprünglichen Charakter mehr oder weniger verlieren, wodurch Konvergenz der verschiedenen Formen zu einer Limitform stattfindet, die jedoch durch keine derselben erreicht wird" (vergl. hierzu „Vorkultivierung", p. 52).

Leider konnte ich diese dem Bac. asterosporus sehr ähnelnde Formen nicht mit zu meinen Versuchen heranziehen, da Herr Prof. Beijerinck keine Kulturen mehr besaß. Meine Vermutung, daß dieselben vielleicht mit dem Bac. asterosporus identisch sein könnten, dürfte noch dadurch bestärkt werden, daß eine von anderer Seite (12) als Clostridium Polymyxa (= Granulobacter Polymyxa) beschriebene Form, deren Originalstamm ich in Händen hatte, sich als Bac. asterosporus erwies.

Ich möchte meine Vermutung bezüglich der Identität des Beijerinckschen Granulobacter Polymyxa und des Bac. asterosporus nur deshalb zum Ausdruck bringen, damit eine bislang nicht genügend charakterisierte Form in der Literatur nicht weiter als Species geführt wird.

Kapitel IV.

Chemische Untersuchung über die von Bac. asterosporus in stickstofffreier Winogradskyscher Nährlösung gebildeten flüchtigen Gärungsprodukte.

Die stickstofffreien Nährlösungen, in denen die Stickstoffgewinne bestimmt werden sollten (s. Kap. III), wurden zunächst der Destillation im Wasserdampfstrom unterworfen, um aus den neutralen Lösungen etwa vorhandene, bei der Gärung gebildete Alkohole zu gewinnen. Es wurden ca. 10 Proz. der vorhandenen Gesamtmenge Nährlösung abgetrieben, also aus 1 l Nährlösung ca. 100 ccm Destillat gewonnen (Destillat I). Die restierende Nährlösung wurde mit Schwefelsäure schwach sauer gemacht und abermals der Destillation im Wasserdampfstrom unterworfen, wobei ebensoviel Destillat gewonnen wurde, als Nährlösung vorlag, also aus 1 l Nährlösung 1 l Destillat hergestellt wurde. Die Destillation wurde so geregelt, daß zuerst, bis ca. $^1/_3$ der gewünschten Menge übergegangen war, das Volumen der Nährlösung unverändert blieb, während sie später allmählich auf ca. die Hälfte ihres ursprünglichen Volumens eingeengt wurde. Das gewonnene Destillat (Destillat II), welches die flüchtigen Säuren enthalten mußte, wurde mit Bariumhydrat neutralisiert, der Ueberschuß von Bariumhydrat mit CO_2 entfernt, die Flüssigkeit nach dem Aufkochen filtriert und eingeengt. Die so gewonnenen Bariumsalze der flüchtigen Säuren wurden eine Stunde bei 105^0 getrocknet und gewogen. Durch Abrauchen mit Schwefelsäure wurde in ihnen der Bariumgehalt bestimmt, um aus demselben einen Aufschluß über die Natur der entstandenen flüchtigen Säuren zu gewinnen.

Außer diesen gebildeten flüchtigen Säuren werden wahrscheinlich auch nicht flüchtige Säuren gebildet, wie aus dem fast gänzlichen Verschwinden der Kreide zu schließen ist. Die Natur derselben wurde nicht bestimmt, da die von den eventuell vorhandenen Alkoholen und den flüchtigen Säuren befreite Nährlösung zur Stickstoffbestimmung verbrannt wurde.

Untersucht wurden auf diese Weisen die Kulturen 5—14 der Tabelle IV über die Stickstoffgewinne (s. p. 82—83).

Das Destillat I, welches die eventuell vorhandenen Alkohole enthalten mußte, wurde zunächst mittels der Liebenschen Jodoformreaktion auf vorhandene Alkohole geprüft. Bei allen Kulturen 5—14 war das Resultat gleich, die Jodoformreaktion trat bei allen Stämmen sehr stark ein. Ein Versuch, vorhandene Alkohole durch Sättigen mit Pottasche abzuscheiden, hatte keinen Erfolg; der Geruch des Destillates war auch nicht alkoholisch. Da durch die Jodoformreaktion noch andere Verbindungen, wie Aldehyde, angezeigt werden, wurde versucht, die Anwesenheit dieser nachzuweisen. Das Resultat war ebenfalls wieder bei allen Kulturen ein gleiches: Ammoniakalische Silbernitratlösung wurde kräftig reduziert, fuchsinschweflige Säure schnell dunkelrot, Nesslers Reagens rief kräftige Gelb- bis Rotgelbfärbung hervor, die nach Zusatz von Cyankalilösung schwarz wurde — zum Unterschied von Ammoniak, dessen Niederschlag mit Nesslers Reagens durch Cyankali völlig verschwindet — mit Metaphenylendiamin trat deutliche gelbrote Färbung ein. Alle diese Reaktionen lassen darauf schließen, daß im Destillate I wahrscheinlich aldehydartige Verbindungen vorhanden waren[1]), und es ist, worauf es

1) Beijerinck gibt an, daß sein „Granulobacter Polymyxa" Spuren Butylalkohol bilde (vergl. oben). Nähere Mitteilung über den Nachweis desselben gibt er nicht, vielleicht hat er die Gegenwart desselben nur aus dem positiven Ausfall der Jodoformreaktion geschlossen.

uns bei diesen Versuchen besonders ankommt, besonders bemerkenswert, daß alle untersuchten Stämme dieselben Reaktionen in ganz gleicher Weise lieferten.

Die Resultate der Untersuchungen der aus dem Destillate II dargestellten Bariumsalze der flüchtigen Säuren sind in folgender Tabelle zusammengestellt. Die Nummern der Kulturen beziehen sich, wie erwähnt, auf dieselben Nummern der Tabelle IV über die Stickstoffgewinne in diesen Kulturen (s. Kap. III, p. 82—83), aus welcher Tabelle man das Nähere über die Zusammensetzung der Nährlösungen, Dauer des Versuches, Temperatur und über die Vorbehandlung des Impfmateriales ersehen wolle.

Tabelle V.

Kultur No. (s. Tab. IV p. 82—83)	Geimpft mit Bac. asterosporus	Nährlösung	Vergorene Menge Zucker	Flüchtige Säure: Menge der erhaltenen Ba-Salze					
				gesamt	auf 1 g vergorenen Zuckers	Zur Analyse verwendet	gibt $BaSO_4$	entspr. Ba	Also Proz.-Gehalt d. Ba-Salze an Barium
	Stamm		g	g	g	g	g	g	Proz.
5	Stamm 131, Paramaribo	1000 ccm 2-proz. Rohrzucker	14,5	3,11	**0,21**	0,7112	0,6482	0,3816	**53,66**
6		1000 ccm 2-proz. Dextrose	20,0	2,39	**0,12**	0,3874	0,3512	0,2067	**53,37**
7	Stamm 128 Zeven	500 ccm 2-proz. Rohrzucker	4,9	2,18	**0,45**	0,4836	0,4406	0,2594	**53,64**
8		500 ccm 2-proz. Dextrose	10,0	1,14	**0,11**	0,3710	0,3421	0,2014	**54,28**
9		500 ccm 2-proz. Rohrzucker	10,0	1,06	**0,11**	0,5544	0,5104	0,3005	**54,20**
10		500 ccm 2-proz. Dextrose	10,0	0,97	**0,10**	0,4278	0,3900	0,2296	**53,67**
11	Stamm 116 Marokko	1000 ccm 2-proz. Dextrose	20,0	1,65	**0,08**	0,4450	0,4092	0,2409	**54,07**
12	Stamm 119 Hammerfest	1000 ccm 2-proz. Dextrose	11,6	1,47	**0,13**	0,4747	0,4298	0,2530	**53,30**
13	Stamm 123 Tokio	500 ccm 2-proz. Rohrzucker	10,0	1,35	**0,14**	0,3560	0,3260	0,1919	**53,91**
14	Stamm 40 Wyk a Föhr	500 ccm 2-proz. Rohrzucker	10,0	1,80	**0,18**	0,5520	0,5024	0,2958	**54,83**

Die Zahlen dieser Tabelle lassen wiederum das äußerst gleichmäßige Verhalten aller untersuchten Stämme zutage treten. In bezug auf die Menge der aus 1 g verbrauchten Zuckers gebildeten flüchtigen Säuren ist diese Gleichartigkeit allerdings nur in den Dextrose als C-Quelle enthaltenden Nährlösungen zu konstatieren, während sich die Rohrzuckerlösungen verschiedener verhalten; im allgemeinen scheint aus letzterem mehr flüchtige Säure gebildet zu sein, als aus Dextrose. Was die Zusammensetzung der flüchtigen Säuren anbelangt, so hat sich deren Ba-Gehalt bei allen untersuchten Stämmen als fast absolut übereinstimmend herausgestellt, ein Unterschied in der Zusammensetzung der flüchtigen Säuren, welche von den verschiedenen Stämmen aus Rohrzucker oder Dextrose gebildet wurden, ist nicht zu erkennen.

Die flüchtigen Säuren, um die es sich hier handeln könnte, sind

vorzüglich Ameisen-, Essig-, Propion-, Butter- und Valeriansäure. Der Bariumgehalt der Bariumsalze dieser Säuren beträgt beim

ameisensauren Barium	$(H-COO)_2$ Ba	= 60,35	Proz.
essigsauren „	$(CH_3-COO)_2$ Ba	= 53,73	„
propionsauren „	$(C_2H_5-COO)_2$ Ba	= 48,41	„
buttersauren „	$(C_3H_7-COO)_2$ Ba	= 44,05	„
valeriansauren „	$(C_4H_9-COO)_2$ Ba	= 38,06	„

Vorzüglich scheint, nach dem Ba-Gehalt der flüchtigen Säuren zu rechnen, Essigsäure gebildet zu sein.

Die nach dieser Richtung hin ausgeführten vorläufigen qualitativen Untersuchungen ergaben folgendes: In der 1:5 hergestellten wässerigen Lösung der Bariumsalze entstand durch Silbernitrat eine dicke kristallinische Ausscheidung. Dieser durch einen Ueberschuß des Silbernitrates hervorgerufene Niederschlag wurde gesammelt. Beim Erwärmen desselben mit Schwefelsäure und Alkohol war Geruch nach Essigäther deutlich bemerkbar. Bei der Destillation mit Schwefelsäure trat intensiver Essigsäuregeruch auf. Das Destillat wurde mit Eisenchlorid braunrot. Essigsäure war demnach mit Sicherheit nachgewiesen. Das Filtrat vom Silberniederschlage wurde erwärmt, es trat starke Reduktion ein: Ameisensäure. Diese Reaktionen waren bei allen Stämmen ganz gleich.

Die von Bac. asterosporus in stickstofffreien Rohrzucker oder Dextrose als C-Quelle enthaltender Winogradskyscher Nährlösung gebildeten flüchtigen Säuren bestehen mithin wohl zum größten Teile aus Essigsäure, der kleinere Mengen Ameisensäure und — dem Bariumgehalte nach zu urteilen — wahrscheinlich auch kleine Mengen einer Säure von höherem Molekulargewicht beigemengt sind.

Literatur.

1) Aderhold, R., Notiz über die Verderber von Gemüsekonserven. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. V. 1899. p. 17, 515.)
2) Ankersmit, P., Untersuchungen über die Bakterien im Verdauungskanal des Rindes. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XL. 1906. p 107.)
3) Behrens, J., Ueber die Taurotte von Flachs und Hanf. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903. p. 524.)
4) Beijerinck u. van Delden, Ueber die Assimilation des freien Stickstoffs durch Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 3.)
5) Beijerinck, M. W., Ueber die Butylalkoholgärung und das Butylferment. (Verh. d. Kgl. Akad. van Wetensch. Amsterdam. II. Sectie. 1893. Deel I. No. 10.)
6) Blau, O., Ueber die Temperaturmaxima der Sporenkeimung und Sporenbildung etc. (Dissert. Marburg 1905 u. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. p. 97.)
7) Bredemann, G., Regeneration der Fähigkeit zur Assimilation von freiem Stickstoff des Bacillus amylobacter A. M. et Bredemann und der zu dieser Species gehörenden bisher als Granulobacter, Clostridium u. s. w. bezeichneten anaëroben Bakterien. (Ber. d. deutsch. botan. Ges. Bd. XXVIa. 1908. p. 362.)
8) Davenport, Statistical methods with special reference to biological variation. New York 1899.
9) Garbowski, L., Ueber Abschwächung und Variabilität bei Bacillus luteus Smith et Baker und Bacillus tumescens Zopf. (Dissert. Marburg, 1907 und Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIX. 1907. p. 641.)
10) —, Ueber einen extrem verkürzten Entwickelungsgang bei zwei Bakterienspecies. (Biolog. Centralblatt. Bd. XXVII. 1907. p. 717.)
11) Gottheil, O., Botanische Beschreibung einer Anzahl sporenbildender Bakterien. (Dissert. Marburg, 1901 u. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VII. 1901. p. 430.)
12) Gruber, Th., Beitrag zur Identifizierung und Beschreibung von Clostridium Polymyxa Prazmowski. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. p 353.)
13) Haselhoff, E. u. Bredemann, G., Untersuchungen über anaërobe stickstoffsammelnde Bakterien. (Landw. Jahrb. Bd. XXXV. 1906. p. 381.)
14) — —, Untersuchungen über Konservenverderber. (Ebenda. Bd. XXXV. 1906. p. 415.)
15) Kürsteiner, J., Beiträge zur Untersuchungstechnik obligat anaërober Bakterien

sowie zur Lehre von der Anaërobiose überhaupt. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIX. 1907. p. 1.)
16) Meyer, Arthur, Neues über die Morphologie der Bakterienzelle und die Entwickelungsgeschichte der Bakteriensporen. (Sitzungsber. d. Ges. z. Beförd. d. Naturw. Marburg 1897. p. 49.)
17) —, Studien über die Morphologie und Entwickelungsgeschichte der Bakterien, ausgeführt an Asteria asterospora A. M. u. Bacillus tumescens Zopf. (Flora. Erg.-Bd. LXXXIV. 1892. p. 185.)
18) —, Ueber Geißeln, Reservestoffe, Kerne und Sporenbildung der Bakterien. (Flora. Bd. LXXXVI. 1899. p. 428.)
19) —, Praktikum der botanischen Bakterienkunde. Jena (Gustav Fischer) 1903.
20) —, Apparat für die Kultur von anaëroben Bakterien und für die Bestimmung der Sauerstoffminima für Keimung, Wachstum und Sporenbildung der Bakterienspecies. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905.)
21) —, Apparat für die Kultur von Bakterien bei hohen Sauerstoffkonzentrationen, sowie zur Bestimmung der Sauerstoffmaxima der Bakterienspecies und der Tötungszeiten bei höheren Sauerstoffkonzentrationen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. p. 386.)
22) Migula, W., Weitere Untersuchungen über Astasia asterospora Meyer. (Flora. Bd. LXXXV. 1898. p. 141.)
23) Neide, E., Botanische Beschreibung einiger sporenbildender Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904 u. Dissert. Marburg, 1904.)
24) Wund, M., Feststellung der Kardinalpunkte der Sauerstoffkonzentration für Sporenkeimung und Sporenbildung einer Reihe in Luft ihren ganzen Entwickelungsgang durchführender, sporenbildender Bakterienspecies. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XLII. 1906. p. 97 u. Dissert. Marburg, 1906.)

Beiträge zur Entwickelungsgeschichte der Uredineen.

Von Prof. **Ed. Fischer** in Bern.

Mit 3 Figuren.

5. Aecidium Homogynes Schroet.[1]).

Auf Homogyne alpina findet man in den Voralpen und auch in anderen Gebieten nicht selten die Teleutosporen von Puccinia conglomerata (Strauss) Kze. et Schm. Dieselbe Komposite wird aber außerdem auch von einem Aecidium bewohnt, das in ziemlich großen, oft kreisrunden Gruppen, Pykniden umgebend, auf der Unterseite verfärbter Stellen der Blätter auftritt. Dieses Aecidium wurde von Winter als zugehörig zu Puccinia conglomerata betrachtet, in welcher er auch die auf Senecio nemorensis lebende P. Senecionis Lib. und eventuell auch P. expansa Link mitinbegreift. Er sagt[2]): „Der Beschreibung des Aecidiums liegen Exemplare von Senecio nemorensis zugrunde, auf denen die Puccinia oft mitten zwischen den Aecidienbechern hervorbricht. Das Aecidium ist außerdem auch auf Homogyne alpina gefunden worden und wahrscheinlich gehören auch andere Senecio-Arten bewohnende Aecidien hierher." — J. Schroeter[3]) zieht zwar ebenfalls Puccinia Senecionis mit P. conglomerata zusammen und betrachtet infolgedessen dieselbe als Pucciniopsis, aber er bemerkt dazu: „Auf Senecio nemorensis kommen Aecidien und Puccinie in Gesellschaft vor, die letztere in unmittelbarer Nähe der Aecidienbecher, oft auch in alten Aecidienbechern selbst, so daß man an ihrer Zusammengehörigkeit nicht wohl zweifeln kann. Auch auf Homogyne findet sich ein Aecidium, dieses aber nie in Gesellschaft

---

1) 1—2 siehe diese Zeitschrift, Abt. II. Bd. XV. 1905. p. 227 ff.; 3—4 ibid. Bd. XVII. 1906. p. 203 ff.
2) Pilze in Rabenhorsts Kryptogamenflora. Ed. 2. Abt. 1. p. 196.
3) Kryptogamenflora von Schlesien. Bd. III. 1. Hälfte: Pilze. p. 342.

der Puccinia conglomerata. Die Aecidien sind hier auch anders gebildet . . . ." Daher trennt Schroeter dieses Aecidium als besondere Species ab [1]) unter dem Namen Aecidium Homogynes.

1891 wies dann Dietel [2]), gestützt auf genauere Formvergleichung der Teleutosporen, darauf hin, daß P. conglomerata auf Homogyne, P. Senecionis auf Senecio nemorensis und endlich P. expansa als besondere Arten auseinandergehalten werden müssen, und daraus, in Verbindung mit obigen Angaben von Schroeter, ergibt sich auch das Fehlen von Aecidien für die erstgenannte Art. Ich habe dann selber [3]) experimentell durch einen Infektionsversuch den Nachweis geleistet, daß P. conglomerata eine Micropuccinia ist: Aussaat von Teleutosporen dieses Pilzes auf Homogyne alpina ergab direkt wieder Bildung von Teleutosporen.

Nach diesen Befunden war also die Zugehörigkeit des Aecidium Homogynes zu P. conglomerata ausgeschlossen; es mußte daher dieselbe anderswo gesucht werden. Dabei erschien es sehr wahrscheinlich, daß dieses Aeidium einer heterözischen Art angehört; die nachfolgenden Untersuchungen haben denn auch diese Annahme in der Tat bestätigt.

Aecidium Homogynes ist in der Schweiz wohl nicht häufig: Bis vor kurzem war es nur aus dem Jura bekannt. Am 9. August 1907 fand ich es zum ersten Male auch in den Alpen: Der Standort befindet sich unweit der Grimselstraße oberhalb der Handeck in der sogenannten Gelmergasse (ca. 1600 m über Meer), an einer Stelle, wo ein kleiner Fußweg zwischen zwei Felswänden durchführt, wie durch eine Gasse. Hier standen mehrere Exemplare von Homogyne, deren Blätter reichlich mit Aecidien besetzt waren. Merkwürdigerweise trat an derselben Stelle, ja sogar in einem Falle auf demselben Blatte wie die Aecidien, auch P. conglomerata auf; aber nach allem oben Gesagten konnte hieraus kein Argument für deren Zugehörigkeit zum Aecidium abgeleitet werden; vielmehr lag es nahe, sich nach einer anderen in der Nähe befindlichen Pflanze als Teleutosporenwirt umzusehen. Das reichliche Auftreten der Aecidien ließ vermuten, daß der Teleutosporenwirt in nächster Nähe stehe, und da in dieser Felsgasse die Flora eher ärmlich ist, so waren die Aussichten um so größer, zu einem Resultate zu gelangen. Ich unterwarf daher, namentlich bei einem späteren Besuche am 11. September 1907, die Stelle einer eingehenderen Durchsicht: da stand zunächst in der Nähe der äcidienbefallenen Homogyne eine Luzula, an die man hätte denken können, da diese Gattung der Teleutosporenwirt von P. oblongata ist, für welche die Aecidien noch unbekannt sind; allein dieselbe erschien vollkommen gesund. Ferner fand ich Anthoxanthum odoratum mit einer Uredo, eine nichtblühende breitblätterige Carex mit Teleutosporen und endlich Veratrum album, reichlich befallen von einer Uredinee, die sich bei späterer Untersuchung als Uromyces Veratri (DC.) Schroet. herausstellte.

Für Uromyces Veratri hat nun zwar Tranzschel [4]) bereits den Nachweis geleistet, daß die zugehörige Aecidienform auf Adenostyles lebt (Aecidium Adenostylis Sydow); allein das schloß die Möglich-

---

1) l. c. p. 379.

2) Ueber Puccinia conglomerata (Str.) und die auf Senecio und einigen verwandten Kompositen vorkommenden Puccinien. (Hedwigia. 1891. p. 291 ff.)

3) Entwickelungsgeschichtliche Untersuchungen über Rostpilze. (Beiträge zur Kryptogamenflora der Schweiz. Bd. I. Heft 1. 1898. p. 68—69.)

4) Beiträge zur Biologie der Uredineen. (Travaux du musée botanique de l'Académie impériale de St. Pétersbourg. Livr. II. 1905. p. 6 ff.)

keit nicht aus, daß derselbe Pilz auch auf Homogyne übergehen kann oder daß Homogyne das Aecidium einer zweiten biologischen Art desselben Pilzes beherberge. — Es wurde daher sowohl vom Pilz auf Veratrum als auch von demjenigen auf Carex Material mitgenommen, um damit Infektionsversuche auszuführen. Die Resultate mit ersterem machten dann die Verwendung des Pilzes auf Carex unnötig.

Versuchsreihe I.

Eingeleitet am 7. November 1907. Mit Uromyces Veratri besetzte Blätter von der Gelmergasse, welche bis dahin in einem kleinen Sack im Freien aufgehängt gehalten worden waren, wurden auf eingetopfte Pflanzen von Adenostyles alpina und Homogyne alpina aufgelegt, welche aus der Gegend zwischen Meiringen und Rosenlaui stammten. Ueber diese Töpfe wurde dünnes Tuch oder Gaze gebunden, um das Wegwehen oder Wegschwemmen der Teleutosporen tragenden Blätter durch Wind oder Regen zu verhindern. Die Töpfe blieben dann bis zum nächsten Frühjahr im Freien stehen. Die Disposition der Versuche war folgende:

Topf No. 1, 3, 5, 7 enthielt Homogyne alpina.
Topf No. 2, 4, 6, 8 enthielt Adenostyles alpina.

Bei einer Durchsicht am 22. April 1908 zeigten sich auf 2 Versuchen mit Homogyne (No. 1 und 5) Pykniden auf jungen Blättern. Der weitere Verlauf der Versuchsreihe gestaltete sich folgendermaßen:

No. 1 (Homogyne): Am 22. April auf 2 jungen Blättern ziemlich zahlreiche Pyknidengruppen; am 1. Mai ist eines der Blätter, welches sehr stark befallen war, von Schnecken angefressen, und 2 andere zeigen kleine Pyknidengruppen. Am 6. Mai bemerkte ich bereits Aecidien.

No. 2 (Adenostyles) bleibt während der ganzen Dauer des Versuches vollkommen gesund.

No. 3 (Homogyne): Am 22. April bemerkte ich noch keinen Infektionserfolg, ebenso auch am 28. April nicht; aber am 1. Mai zeigte ein Blatt 4—5 Pyknidengruppen, am 6. Mai ca. 6 Aecidiengruppen; am 11. Mai endlich fand ich noch auf 2 weiteren Blättern je einen Infektionsfleck mit Pykniden.

No. 4 (Adenostyles) bleibt während der ganzen Versuchsdauer vollkommen gesund.

No. 5 (Homogyne): Am 22. April fand ich auf 4 jüngeren Blättern teils einzelne Pykniden, teils Pyknidengruppen. Am 1. Mai sind 5 Blätter mit Pykniden besetzt, davon eines ganz besonders intensiv; an zweien dieser Blätter bemerkte ich höckerförmige Aecidienanlagen, von denen einige wenige bereits geöffnet sind. Am 5. Mai wurden dann 2 mit zahlreichen offenen Aecidien besetzte Blätter abgeschnitten und am 6. Mai zeigt die Pflanze noch 4 mit Pykniden und zum Teil mit Aecidien besetzte Blätter.

No. 6 (Adenostyles) bleibt während der ganzen Versuchsdauer vollkommen gesund.

No. 7 (Homogyne) zeigt am 22. April auf einem jüngeren Blatte ein helleres Fleckchen, am 28. April sind 2 Pyknidengruppen sichtbar, am 1. Mai zeigen 2 Blätter solche und am 5. Mai sind auf letzteren Aecidien ausgebildet.

No. 8 (Adenostyles): Am 28. April bemerkte ich am Rande eines Blattes auf der Unterseite eine Pyknidengruppe, am 1. Mai läßt dieselbe Stelle zwei einander ganz benachbarte solche Gruppen erkennen, am 6. Mai finde ich daselbst einige offene Aecidien.

Ueberblickt man nun das Ergebnis dieser Versuchsreihe, so erkennt man, daß mit den Teleutosporen des *Uromyces Veratri Homogyne* überall da, wo sie hinreichend junge Blätter hatte, erfolgreich infiziert worden ist, während auf *Adenostyles* nur in einem Versuche zwei kleine Pykniden- bezw. Aecidiengruppen entstanden. Dieses ungleiche Verhalten der beiden Versuchspflanzen wird, da die Versuche unter gleichen Verhältnissen ausgeführt worden sind, am einfachsten so gedeutet, daß hier ein *Uromyces Veratri* vorliegt, der nur *Homogyne*, nicht aber *Adenostyles* zu befallen imstande ist. Der einmalige Infektionserfolg auf letzterer wäre dabei dem Umstande zuzuschreiben, daß auf den verwendeten *Veratrum*-Blättern auch vereinzelte Lager desjenigen *Uromyces* zugegen gewesen sind, welcher seine Aecidien auf *Veratrum* bildet. Eine solche Beimengung kann uns nicht in Verwunderung setzen, wenn wir bedenken, daß dieser letztere *Uromyces* in den Alpen keine seltene Erscheinung ist; ich habe seine Aecidien z. B. auf der Grimsel gefunden; sein Vorkommen in der Gegend der Handeck ist also wohl denkbar. — Immerhin ist aber doch die Deutung noch nicht ganz ausgeschlossen, daß derselbe Pilz beide Kompositen befallen kann, daß er aber im vorliegenden Falle *Adenostyles* nur deshalb so schwach befallen hätte, weil die Blätter der letzeren beim Austreiben nur wenig mit dem Teleutosporenmaterial in Berührung gekommen wären. Eine zweite von mir ausgeführte Versuchsreihe schließt aber diese Möglichkeit aus.

Versuchsreihe II.

Das zu Versuchsreihe I nicht verwendete Teleutosporenmaterial von der Gelmergasse wurde in einem kleinen Tuchsäckchen überwintert, welches ich im botanischen Garten zwischen Gesträuchern nahe über dem Boden aufhängte. Am 29. April 1908 wurden dann die teleutosporentragenden Blätter in Wasser aufgeweicht und ein Teil derselben auf gesunde *Homogyne*- und *Adenostyles*-Pflanzen aufgelegt. Ein anderer Teil wurde in Wasser geschüttelt und die bei *Uromyces Veratri* bekanntlich leicht ablösbaren Sporen darin fein verteilt. Hierauf wurde dieses teleutosporenführende Wasser mittels Verstäuber auf weitere *Homogyne*- und *Adenostyles*-Pflanzen, sowie auf Objektträger aufgetragen. In diesen Objektträgerversuchen zeigten sich am 2. Mai ziemlich viele gekeimte Teleutosporen, doch hatten die meisten von ihnen bloß Keimschläuche und nur die wenigsten auch Basidiosporen gebildet. Ebenso verhielt sich ein am 4. Mai untersuchter Objektträgerversuch. Auffällig war dabei der Umstand, daß an der Austrittsstelle aus der Teleutospore die Keimschläuche bezw. die Basidien sehr häufig eine blasenförmige Anschwellung mit oft etwas verdickter Membran gebildet hatten. Es erinnert dieses Verhalten an die von *Alfred Möller*[1])

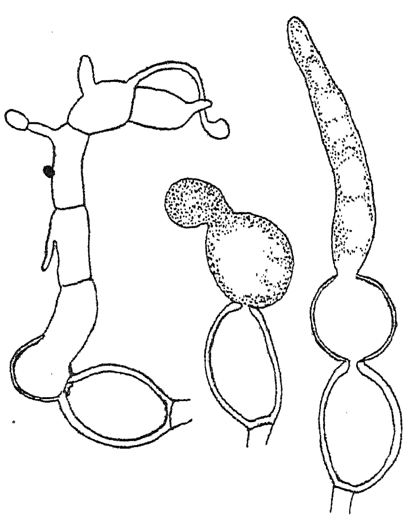


Fig. 1. Keimung der Teleutosporen auf Objektträger. Vergr. 620.

1) Möller, Alfred, Protobasidiomyceten. (A. F. W. Schimpers Botanische

in der Auricularineengattung Jola beobachtete Tragzelle, aus der die Basidie entspringt, welche Möller mit einer Uredineenteleutospore vergleicht (Fig. 1).

Im einzelnen waren die Versuche auf Homogyne und Adenostyles folgendermaßen verteilt:

No. 1	Adenostyles alpina	Teleutosporentragende Blattstücke aufgelegt.
„ 2	Homogyne alpina	
„ 3	Adenostyles alpina	
„ 4	Homogyne alpina	
„ 5	Adenostyles alpina	In Wasser verteilte Teleutosporen mittels Verstäuber aufgetragen.
„ 6	Homogyne alpina	
„ 7	Adenostyles alpina	
„ 8	Homogyne alpina	

An allen diesen Pflanzen sind jugendliche Blätter vorhanden.

Das Resultat dieser Versuchsreihe war folgendes:

No. 1 (Adenostyles) blieb während der ganzen Dauer des Versuches vollkommen gesund.

No. 2 (Homogyne). Am 9. Mai finde ich auf 2 Blättern, am 11. Mai auf 4 Blättern Pyknidengruppen; am 18. Mai sind viele offene Aecidien entwickelt.

No. 3 (Adenostyles) blieb während der ganzen Dauer des Versuches gesund.

No. 4 (Homogyne) blieb während der ganzen Dauer des Versuches frei von Infektion.

No. 5 (Adenostyles) blieb während der ganzen Dauer des Versuches frei von Infektion.

No. 6 (Homogyne). Am 12. Mai bemerkte ich am Rande eines Blattes zwei kleine Pyknidengruppen; am 20. Mai tragen 4 Blätter am Stiel oder an der Spreite Aecidiengruppen.

No. 7 (Adenostyles) blieb während der ganzen Dauer des Versuches frei von Infektion.

No. 8 (Homogyne). Am 11. Mai zeigen sich auf 2 Blättern Pyknidengruppen und auf einem dritten ein heller Fleck; am 14. Mai tragen 6 Blätter auf Spreite oder Blattstiel Pyknidengruppen, zum Teil sehr gut entwickelt, und am 18. Mai sind viele offene Aecidien da. Eine weitere genauere Kontrolle am 20. Mai ergab, daß 7 Blätter an Spreite oder Stiel zum Teil in größeren Gruppen, zum Teil spärlich Aecidien tragen.

Die beiden Versuche auf Homogyne, in denen Teleutosporen mit dem Verstäuber auf die Blätter aufgetragen worden sind, zeigen also ein positives Infektionsergebnis, während von den Versuchen, in welchen teleutosporentragende Blätter aufgelegt waren, einer kein positives Resultat ergab.

Daß die Aecidien nicht noch reichlicher aufgetreten sind, mag daran liegen, daß nur ein Teil der Teleutosporen gekeimt hat und auch die gekeimten, wie der Objektträgerversuch lehrt, nur zum kleinen Teile Basidiosporen bildeten. Da aber sämtliche Adenostyles-Pflanzen gut entwickelte und völlig gesunde Blätter zeigen, so kann es keinem Zweifel mehr unterliegen, daß der vorliegende Uromyces Veratri nur auf Homogyne, nicht aber auf Adenostyles übergeht, daß derselbe sich also von demjenigen Uromyces Veratri, mit welchem Tranzschel experimentiert hat, in biologischer Hinsicht verschieden verhält.

Die in Versuchsreihe I entstandenen Aecidien habe ich dann auch zu Rückinfektionen auf Veratrum verwendet. Zu dem Zwecke wurden einige Veratrum-Pflanzen, die teils aus dem botanischen Garten stammten, teils von auswärts bezogen waren, in Töpfe gepflanzt und bis zur Benutzung, sorgfältig von den Homogyne-Aecidien getrennt, in einem Gewächshause gehalten. In allen diesen Versuchen — es waren im ganzen vier — wurde ein positives Resultat erzielt. Es soll aber im folgenden nur über einen derselben berichtet werden. Derselbe wurde am 16. Mai eingeleitet. Es dienten dazu Aecidiosporen aus den Versuchen I5 und I7. Die aecidientragenden Blätter wurden abgeschnitten, dann in Wasser geschüttelt und die auf diese Weise fein verteilten Aecidiosporen mittels Verstäuber auf 2 Veratrum-Pflanzen aufgetragen, von welchen die eine (No. 1) drei bis vier derbere, offenbar etwas ältere Blätter trägt, während die andere 8 Blätter von verschiedenem Alter aufweist (No. 2). — Das Ergebnis war folgendes: No. 1 zeigte bis zum 19. Juni kein positives Infektionsresultat. Anders No. 2: schon am 23. Mai bemerkte ich in sehr gleichmäßiger Verteilung auf der Blattunterseite kleine weißliche Pustelchen, junge Sporenlager. Am 25. Mai sind dieselben mehr entwickelt, aber immer noch epidermisbedeckt; am 26. Mai zeigen sich geöffnete Sporenlager. Mikroskopische Untersuchung von Sporenproben, welche von 3 Blättern entnommen wurden, ergab das ausschließliche Vorhandensein von Uredosporen, und auch die heller braune Farbe der Lager spricht dafür, daß lauter Uredopusteln vorliegen. Von den 8 Blättern der Pflanze sind die sieben oberen alle reichlich mit Sporenlagern besetzt, während ich auf dem untersten, ältesten, zunächst keine Sporenlager fand; am 4. Juni bemerkte ich dann auf demselben eine einzige Uredopustel, welche ich vorher wohl übersehen hatte. Die übrigen Blätter zeigten bei einer Kontrolle am 29. Mai und bei einer solchen am 4. Juni stets nur Uredolager. Eine Veränderung konstatierte ich dann aber, als ich nach mehrtägiger Abwesenheit den Versuch am 19. Juni wieder beobachtete: Die gelb verfärbten Stellen, auf denen die Sporenlager sitzen, haben sich in der Längsrichtung des Blattes stark ausgedehnt: ihre Länge beträgt bis 1 cm, die Breite dagegen nur $1-1^1/_2$ mm. Jede derselben trägt jetzt eine größere Zahl von Sporenlagern und die Untersuchung der letzteren ergab, daß diejenigen der Mittelpartie jeder Infektionsstelle vorwiegend oder doch jedenfalls in großer Zahl Uredosporen enthält, während diejenigen, welche an beiden Enden der gelbverfärbten Streifen liegen, ausschließlich oder fast ausschließlich aus Teleutosporen vom Typus des Uromyces Veratri bestehen.

Es lassen sich aus diesem Versuchsergebnisse folgende Schlüsse ableiten:

1) Das aus den Aecidiosporen hervorgehende Mycel kann sowohl Uredo- wie auch Teleutosporen bilden. Dabei scheinen beide Sporenarten im gleichen Lager auftreten zu können.

2) Die Ausbreitung dieses Mycels im Veratrum-Blatte erfolgt rascher in der Längsrichtung, parallel zu den Rippen, als in der Richtung senkrecht zu letzteren.

3) Die Aecidiosporen können nur Blätter infizieren, welche im Alter nicht zu vorgerückt sind: In älteren, derberen Blättern können ihre Keimschläuche nicht zur Weiterentwickelung gelangen. Es unterscheiden sich in dieser Beziehung die Aecidiosporen von den Uredosporen, da letztere auch ältere Blätter zu infizieren imstande sind: Den Beweis hierfür liefert Ver-

such No. 1, welcher, wie wir gesehen haben, bis zum 19. Juni keinerlei positives Infektionsresultat ergeben hat; ebenso auch das unterste Blatt der Pflanze von Versuch No. 2, an welchem bis zum 4. Juni nur ein einziges Sporenlager auftrat. Als ich dann aber am 8. Juli dieses unterste Blatt nochmals kontrollierte, wies es ziemlich zahlreiche Sporenlager auf, die ihre Entstehung nur den von den oberen Blättern abgefallenen Uredosporen verdanken können. Auch die Pflanze No. 1, welche daneben stand, hatte jetzt eine vereinzelte Sporenlagergruppe aufzuweisen, die ihre Entstehung sicher ebenfalls auf die von den oberen Blättern der Ver-

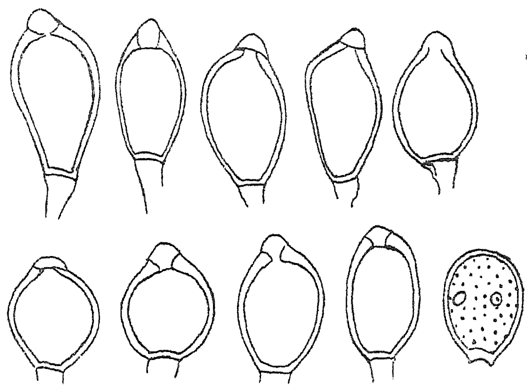


Fig. 2. Teleutosporen und Uredospore des zu Aecidium Homogynes gehörigen Uromyces Veratri aus unserem Infektionsversuch auf Veratrum. Vergr. 620.

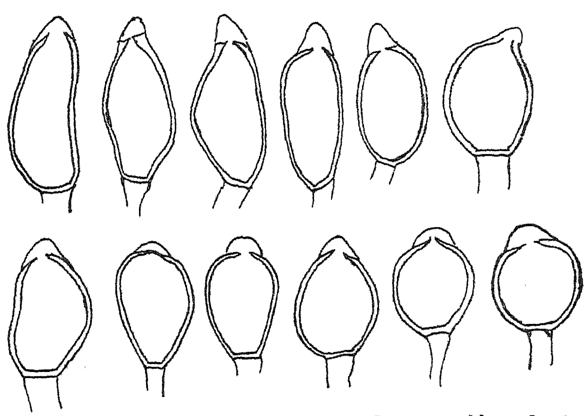


Fig. 3. Teleutosporen des zum Aecidium Adenostylis gehörigen Uromyces Veratri nach Material, das Tranzschel zu seinen Versuchen benutzt, aus dem Diemtigental stammend. Vergr. 620.

suchspflanze No. 2 abgefallenen Uredosporen zurückführt. — Daß Aecidiosporen ältere Blätter nicht zu infizieren vermögen, ist eine Beobachtung, die bisher meines Wissens noch nicht oft gemacht worden ist. Aber es liegen doch Angaben schon vor, die auf derartiges Verhalten hinweisen: W. Krieg[1]) fand bei seinen Infektionsversuchen mit Aecidio-

1) Krieg, W., Experimentelle Untersuchungen über Ranunculus-Arten bewohnende Uromyces. (Diese Zeitschrift. Abt. II. Bd. XIX. Versuchsreihen XIII und XIV.)

sporen von Uromyces Dactylidis, daß auf Sämlingen von Dactylis ein guter und sicherer, auf erwachsenen Pflanzen dagegen nicht immer ein reichlicher Erfolg eintrat.

Endlich ist noch die Frage zu untersuchen, ob derjenige Uromyces Veratri, welcher seine Aecidien auf Homogyne bildet, in morphologischer Hinsicht mit demjenigen, welcher seine Aecidien auf Adenostyles entwickelt, völlig übereinstimmt. Durch die Güte des Herrn W. Tranzschel habe ich Gelegenheit gehabt, die in unserer letztbeschriebenen Versuchsreihe entstandenen Teleutosporen mit dem Material zu vergleichen, das Tranzschel zu seinen Versuchen auf Adenostyles benutzt hat. Es stammte dasselbe aus dem Diemtigental im Berner Oberland. Wir geben in Fig. 2 und 3 die Abbildungen der Teleutosporen beider Formen bei gleicher Vergrößerung. Es ist aus denselben ersichtlich, daß ein greifbarer Unterschied zwischen beiden nicht besteht; höchstens schien mir die Form von Adenostyles etwas dünnwandigere und vielleicht auch etwas unregelmäßiger gestaltete Teleutosporen zu haben; allein es könnte dieser Eindruck auf eine Zufälligkeit zurückzuführen sein, oder es könnten für die Membrandicke auch Standortseinflüsse in Betracht fallen. — Uredosporen lagen mir zum Vergleiche zu wenig vor, als daß ich mich über deren Uebereinstimmung oder Nichtübereinstimmung aussprechen könnte. Unter dem Vorbehalt, daß auch sie völlig übereinstimmen, kommen wir zu dem Ergebnis, daß Uromyces Veratri in zwei biologische Arten zerlegt werden muß, die wir als f. sp. Adenostylis und f. sp. Homogynes bezeichnen können.

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena

Abgeschlossen am 28. Oktober 1908.

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XXII. No. 4/6.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Die Hauptlinien des natürlichen Bakteriensystems.

Vorläufige Mitteilung (Juli 1908).

Von Prof. Dr. **Orla Jensen.**

Die übliche Einteilung der Bakterien in die drei Familien: Coccaceae, Bacteriaceae und Spirillaceae macht es unmöglich, biologisch verwandte Arten zu vereinigen. Ich habe deshalb versucht, ob es sich nicht machen ließe, von biologischen Eigenschaften der Bakterien ausgehend, ein System aufzustellen, das in morphologischer Beziehung natürlicher scheint, als es die morphologischen Systeme in biologischer Beziehung tun.

Da ich diesen Versuch noch nicht eingehend besprechen kann, gestatte ich mir, hier nur ein kurzes Resumé desselben zu geben.

Nehmen wir an, daß die ersten Bakterien auf der Erde lediglich von anorganischer Nahrung haben leben können, so wird die nächste Entwickelungsstufe solche Bakterien sein, welche sich mit anorganischen Stickstoffquellen begnügen können, aber organischer Kohlenstoffquellen bedürfen, und endlich die dritte Entwickelungsstufe Bakterien, welche sowohl organische Stickstoffquellen als auch organische Kohlenstoffquellen verlangen.

Im Einklang mit diesem Gedankengang steht es, die pathogenen Bakterien von den ungefährlichen Parasiten und diese weiter von den Saprophyten abzuleiten. Die milchzuckervergärenden Bakterien können erst nach den Säugetieren entstanden sein, und die typischen Urobakterien müssen ebenfalls verhältnismäßig späten Ursprungs sein. Ferner, je komplizierter die Nahrung der Bakterien ist, desto reichlicher müssen dieselben mit Ektoenzymen (d. h. eigentlichen Verdauungsenzymen) ausgestattet sein. Von verwandten Arten müssen daher die nicht-gelatineverflüssigenden in der Regel älter als die gelatineverflüssigenden sein.

Während die autotrophen Bakterien obligat aërob sind, können die meisten anderen Bakterien auch anaërob leben. Der Uebergang wird von den Bakterien gebildet, die nur dann anaërob wachsen können, wenn ihnen Oxydationsmittel zur Verfügung stehen. Hierzu gehören in erster Linie die denitrifizierenden Bakterien. Da die Entwickelung also von Sauerstoffatmung zu Spaltungsatmung geht, so müssen Bakterien, die vorzugsweise Oxydase (+ Katalase) enthalten, älter sein, als diejenigen, welche vorzugsweise Spaltungsenzyme (+ Reduktase) enthalten. Den Uebergang bilden die Bakterien, in welchen die beiden Enzymsysteme deutlich entwickelt sind.

Das Bakteriensystem, welches nun aus diesen biologischen Voraussetzungen hervorgeht, ist in morphologischer Beziehung mindestens ebenso wahrscheinlich, wie die früheren rein morphologischen Systeme. Das Kurzstäbchen scheint die Urform gewesen zu sein, aus welcher sich innerhalb der einzelnen Familien einerseits Kokken und andererseits Spirillen entwickelt haben. Von den Kokken müssen wir annehmen, daß die,

welche sich wie die Stäbchen nur nach einer Richtung teilen, älter als diejenigen sind, welche sich nach zwei Richtungen teilen, und diese wiederum älter als die, welche sich nach allen drei Richtungen teilen können. Von den Kokken sind es nämlich nur gewisse Sarcinen, welche Endosporen bilden, und es geht aus dem System deutlich hervor, daß Endosporenbildung nur in den spätest entstandenen Gattungen vorkommt. Alle älteren Bakterien scheinen monotrich oder lophotrich zu sein, während die neueren Bakterien (insofern sie nicht unbeweglich sind) peritrich sind. Ich habe daher die Bakterien in die zwei Ordnungen: Cephalotrichinae und Peritrichinae geteilt. Die erste Ordnung, in welcher der Uebergang zu den Pilzen und Algen zu suchen ist, besteht hauptsächlich aus typischen Wasserbakterien, während die Bakterien der zweiten Ordnung eine eigentümliche Spezialentwickelung zeigen und sich dadurch auszeichnen, daß sie Spaltungsgärungen ausführen können.

Nachdruck verboten.

Ueber die Bildung kristallisierter, Fehlingsche Lösung nicht reduzierender Körper (Polysaccharide) aus Stärke durch mikrobielle Tätigkeit.

[Vorläufige Mitteilung aus der k. k. allgemeinen Untersuchungsanstalt für Lebensmittel in Wien.]

Von **Franz Schardinger.**

Mit 2 Tafeln und 1 Abbildung im Text.

Bereits im Jahre 1903 konnte ich über die durch thermophile Bakterien bewirkte Bildung kristallisierter Körper aus Stärke berichten [1]).

Am Schlusse der Arbeit gab ich der Erwartung Ausdruck, daß die „reaktive Schärfe" der Mikroben vielleicht auch auf dem bisher noch vielfach unentwirrten Gebiete des Stärkeauf- und -Abbaues bezw. ihrer Zusammensetzung einiges Licht zu verbreiten vermöchte. Durch Fortsetzung der Arbeit in dieser Richtung hoffte ich, dem Ausspruche eine wohlfundierte Unterlage verschaffen zu können. Doch die Bemühungen scheiterten zunächst an dem Umstande, daß, als nach längerer Unterbrechung die Versuche wieder aufgenommen werden sollten, die betreffende Mikrobienart ihr Stärkeauflösungsvermögen fast vollständig eingebüßt hatte. Alle Mühe, sie zur Wiederaufnahme ihrer Wirkungsweise anzuspornen, war vergeblich.

Inzwischen hatte ich den Bacillus macerans gefunden [2]), und die allmählich heranreifende Kenntnis seiner biologischen Eigentümlichkeiten rief die Erwartung wach, daß vielleicht durch ihn Rettung aus der Not zu finden sei, und in der Tat, die diesbezügliche Vermutung sollte sich bewahrheiten. Die im folgenden mitzuteilenden Versuche wurden im Laufe von 2 Jahren mehrfach wiederholt, das Endergebnis blieb im Wesen immer dasselbe, so daß neben der Acetonbildung auch die zu schildernde Tätigkeit als eine den Bacillus macerans charakterisierende Eigenschaft anzumerken ist.

---

1) Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungsmittel etc. Jahrg. VI. p. 874.
2) Wiener klin. Wochenschr. Jahrg. 1904. No. 8. Dieses Centralblatt Bd. XIV. 1905. p. 772 und Bd. XIX. 1907. p. 161.

Aeußere Gründe zwingen mich zu einer voraussichtlich längere Zeit andauernden Unterbrechung der Arbeit. Die bis jetzt erhaltenen Ergebnisse möchte ich daher trotz ihrer Unvollständigkeit mitteilen, da sie einen weiteren Fortschritt in der Stärkechemie anbahnen. Verwendet wurde reinste käufliche Stärke, aus der ein klümpchenfreier Kleister bereitet wurde. Für gewöhnlich wurden Portionen zu 100 g Stärke in 2 Liter Wasser angesetzt mit einem Zusatz an Nährsalzen von 2 g phosphorsaurem Ammon, 0,5 g Magnesiasulfat und etwas Kochsalz. Die sterilisierten Kolben erhielten nach Abkühlung auf 40° C das Impfmaterial in Gestalt ganzer Keile gut gewachsener Kartoffelkulturen einverleibt und wurden bei 45° C aufgestellt. Nachbenannte Stärkesorten kamen jeweils zur Anwendung: Weizen, Reis, Mais, Kartoffel und Arrowroot (Amylum Marantae).

Ungefähr innerhalb 10 Stunden nach der Impfung tritt im Kolben eine Sonderung in Kleister und eine darüber stehende, hellgelb gefärbte, opalisierende Flüssigkeit ein. Der Kolbeninhalt wird dann leichter beweglich, beim Schütteln tritt lebhaftes Schäumen sowie Geruch nach Aceton auf. Nach 3—4 Tagen ist die Reaktion beendet. Kartoffelstärke und Arrowroot sind fast vollständig gelöst, geringere Lösungserscheinungen machen sich bei Weizen und Reis bemerkbar. Der Kolbeninhalt wird sodann durch einen Warmwassertrichter filtriert, die ersten trübe durchlaufenden Portionen werden zurückgebracht, worauf leicht ein vollkommen klares Filtrat zu erhalten ist, das stark nach Aceton riecht, sauer reagiert und mit Jodlösung eine rotbraune Färbung gibt. (Die hier und im folgenden erwähnte Jodlösung hatte die Zusammensetzung: 1 g Jod, 2 g Jodkali gelöst in 50 ccm Wasser.)

Das Filtrat wurde entweder mit Natronlauge oder mit Kreide neutralisiert, eventuell filtriert und auf dem Wasserbade auf ca. 300 ccm eingeengt.

Der eingedampfte Rückstand wird gekühlt, wobei hier und da bereits mehr oder minder reichlich kristallisierte Produkte ausfallen, und hierauf mit ca. 50-proz. Alkohol ausgekocht. Die über dem Ungelösten stehende, klare alkoholische Lösung wird abgegossen, der Alkohol verjagt, die Lösung eingeengt und sodann mit etwas Aether versetzt in der Kälte stehen gelassen. (Der in Alkohol ungelöste Rückstand wurde vorderhand nicht weiter untersucht.)

In der gelbbräunlich gefärbten Flüssigkeit werden bald glitzernde Flimmer sichtbar, die allmählich zu Boden sinken und einen weißen, schlammigem, Schwimmsand ähnlichen Bodensatz bilden. Wenn keine weitere Mehrung des Bodensatzes wahrzunehmen war, wurde die darüber stehende Flüssigkeit abgezogen und durch ätherhaltiges Wasser ersetzt.

Bei mikroskopischer Untersuchung des Bodensatzes sieht man vorwiegend feine Blättchen in Gestalt zumeist regelmäßiger, sechsseitiger Täfelchen, die bei rollender Bewegung als sehr dünne, sechsseitige Prismen zu erkennen sind, dann kleine, glashelle, prismatische (rhombische?) Kriställchen und spärliche, zu drusigen Aggregaten vereinte, bräunliche Nädelchen. Fig. 1 auf der beigegebenen Tafel stellt sechsseitige Täfelchen aus Maisstärke dar. Das aus den übrigen Stärkesorten erhaltene Produkt ist von analoger Beschaffenheit. Ob sich feinere Unterschiede in Seitenlängen, Winkelmaßen etc. auffinden lassen werden, soll späterer Forschung überlassen bleiben. Fig. 2 stellt aus Weizen erhaltene „Sechsecke“ dar, deren Konturen undeutlicher, verwaschen aussehen. Das Präparat wurde

in der Weise erhalten, daß ein Teil des Filtrates aus einem Weizenkleisterkolben vor dem weiteren Eindampfen der Kälte ausgesetzt wurde.

Wird das mikroskopische Präparat aus dem Bodensatze nur durch von oben seitlich einfallendes Licht beleuchtet, so leuchten die Täfelchen in allen Farben des Spektrums.

Im polarisierten Lichte beobachtet man keine Aufhellung des dunklen Gesichtsfeldes, nur wenn die Täfelchen ins Rollen kommen, so leuchten die Seitenflächen bei entsprechender Lage auf.

Sehr interessant ist das Verhalten der Sechsecke gegenüber der Jodlösung.

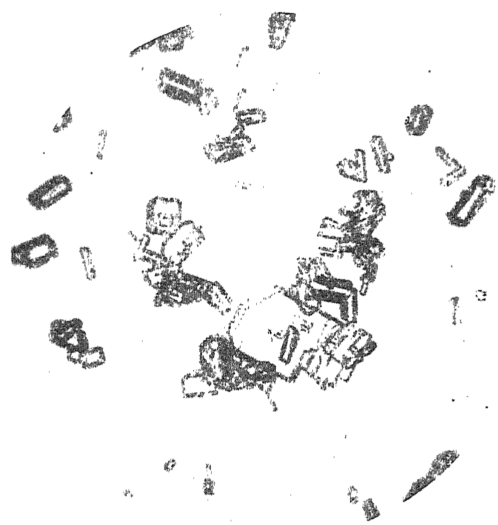
Tropft man einer Deckglaskante entlang etwas Jodlösung auf, so verschwinden zunächst im Bereiche des unter das Deckglas einfließenden Jodstromes die Täfelchen, dann erscheinen an ihrer Stelle graugrüne bis graugelbliche Nadelbüschel, die häufig wie die Borsten einer Bürste auf einer ovalen Basis aufsitzen. Kreuzen sich zwei benachbarte Nadelbüschel, so erscheint die Kreuzungsstelle und nur diese **blau** gefärbt.

Nach ein paar Minuten schießen vom Deckglasrande ausgehend lange, dünne Nadeln und Nadelbüschel über das ganze Gesichtsfeld, diese Nadeln zeigen ebenfalls da, wo sie gehäuft liegen und sich kreuzen, an den Kreuzungsstellen blaue Färbung. In kurzer Zeit bildet sich am Ende des „Jodstromes" ein bogenförmiger Nadelwall, der — auch makroskopisch wahrnehmbar — Blaufärbung vornehmlich an der konvexen Seite zeigt. Nach allen bis jetzt gemachten Erfahrungen scheint die Luft an der Entstehung der Färbung nicht unbeteiligt zu sein. Stellenweise treten übrigens auch rote bis blau-violette Färbungen auf. Den Deckglasrändern zunächst liegend und nach weiterer Verdunstung auch im Innern des Deckglaspräparates treten dann kleine, prismatische Kriställchen in Erscheinung, deren sechsseitige Basisflächen himmelblau bis dunkel schwarzblau gefärbt sind, während die Seitenflächen nur eine graugrüne bis graubräunliche Färbung zeigen.

Der früher erwähnte, aus den eingeengten alkoholischen Flüssigkeiten in der Kälte herausgefallene, in ätherhaltigem Wasser aufbewahrte, schlammige Kristallbrei wurde auf einem Filter gesammelt, wiederholt mit kaltem Wasser gewaschen, mittels Pumpe vom Waschwasser möglichst befreit, in heißem Wasser gelöst und die heiße Lösung durch einen Warmwassertrichter filtriert. Beim Erkalten scheiden sich, wie dies bereits in der eingangs zitierten Abhandlung dargelegt ist, vorwiegend zweierlei Substanzen ab, feine weiße, in wässeriger Suspension glitzernde „Sechsecke" A) und am Boden und den Wandungen der Schale aufsitzend derbe, prismatische Kristalle B. Ein Bild der Kristalle B gibt die im Texte folgende Abbildung (Vergr. 300).

Die l. c. ausgesprochene Vermutung, daß B aus A, wahrscheinlich durch Aufnahme von Wasser, hervorgehe, vermag ich jetzt durch einige Beobachtungen zu stützen. Wird der in ätherhaltigem Wasser suspendierte Kristallbrei längere Zeit (einige Monate hindurch) bei Zimmertemperatur aufbewahrt, so kann man durch mikroskopische Kontrolle eine Zunahme der prismatischen Kriställchen (rhombische [?] Tafeln) und ein Zurückgehen der „Sechsecke" konstatieren. Wird die über den Kristallen B stehende Flüssigkeit abgegossen und bis zur Lösung der Sechsecke erwärmt, so scheiden sich beim Erkalten neuerdings prismatische Kristalle ab.

Eine Charakteristik der Kristalle B in chemisch-physikalischer Beziehung ist bereits in der mehrfach zitierten Abhandlung p. 875 gegeben, worauf verwiesen sei.



Diese Kristalle habe ich in gleicher Weise aus Weizen-, Reis-, Kartoffelstärke und Arrowroot erhalten. Ein Unterschied in chemisch-physikalischer Beziehung besteht anscheinend nicht.

Die beste Ausbeute, reichlich über 5 Proz., lieferte Weizen, am leichtesten rein zu bekommen war die Substanz aus Arrowroot.

Im polarisierten Lichte erfolgt Aufhellung bezw. Verdunkelung je nach der Stellung des Präparates. An größeren Kristallen leuchten wohl auch einzelne Kristallflächen in rotem, gelbem oder blauem Lichte.

Eine Bestimmung des Gehaltes an Kristallwasser sowie der spezifischen Drehung in 1-proz. wässeriger Lösung bei ca. 20° C ergab nachstehende Werte:

Stärke	Weizen	Reis	Kartoffel	Arrowroot
Proz. Wasser	14,76	14,17	14,45	14,70
$\alpha_{[D]}$ =	+137,9°	+138,4°	+136,8°	+136,0°

Für einen Körper von der Zusammensetzung $C_6H_{10}O_5 + 3$ Aqu. berechnet sich ein Gehalt an Kristallwasser von 14,28 Proz. Wasserfreie Substanz zeigte in 1-proz. wässeriger Lösung bei ca. 20° C eine spez. Drehung von $\alpha_{[D]} = + 158°$.

Interessant ist die Jodreaktion der Kristalle, die in folgender Weise in Szene gesetzt wird:

Ein kleiner Kristall wird in wenig Wasser auf einem Objektträger durch gelindes Erwärmen in Lösung gebracht, die Lösung mit einem Deckglas bedeckt und zur Kristallisation hingestellt. Fügt man nun am Rande einen Tropfen Jodlösung zu, so verschwinden zunächst im Jodstrome die Kriställchen, dann erscheinen an ihrer Stelle lange, feine, gelbgefärbte Nadeln und Nadelbüschel, nach einiger Zeit auch kleinere, derbere, prismatische Kriställchen. Kreuzen sich einzelne Nadeln, so sind die Kreuzungsstellen dunkel, und zwar der Intensität nach verschieden, je nach dem Winkel, unter dem die Kreuzung erfolgt. Manchmal erscheinen die Kreuzungsstellen in rotem Lichte, auch die an der Spitze der kleinen Prismen befindlichen Flächen zeigen hier und da rote Färbung. Trocknet das Präparat langsam ein, so ändert sich nichts Wesentliches an der Färbung, niemals habe ich blaugefärbte Kristalle (Nadeln oder Prismen) gesehen. Fig. 3 gibt ein Bild der Kristalle mit deutlich erkennbarer Verdunkelung an einigen Kreuzungsstellen.

Die Kristalle B wurden l. c. p. 876 als „kristallisiertes Dextrin“ bezeichnet, nach eingehendem Studium der Monographie A. Meyers über die Stärke[1]) muß ich jedoch den Namen in „kristallisiertes Amylodextrin“ umändern, da die große Aehnlichkeit der Substanz mit dem Amylodextrin Meyers unverkennbar ist. Da der Körper unschwer in genügender Menge und wegen seiner ausgeprägten Kristallisationsfähigkeit auch leicht rein zu erhalten ist, so eignet er sich vorzüglich für weitere Versuche, von denen zunächst wohl die Bestimmung der Molekulargröße und das Studium seines Verhaltens zur Diastase die wichtigsten wären.

Aus der Mutterlauge des Amylodextrins gelang es dann noch, einen zweiten kristallisierten Körper zu erhalten, der aus weingeistiger Lösung in lanzettförmigen, zu Drusen vereinten, wasserhellen Nadeln kristallisiert. Aus wässeriger Lösung allein konnten bisher keine Kristalle erhalten werden. In kaltem Wasser ist dieser Körper ungleich leichter löslich als Amylodextrin. In größerer Menge habe ich ihn vorläufig aus Weizenstärke dargestellt; er ist jedoch auch in den Umwandlungsprodukten der übrigen Stärkesorten vorhanden, wie ich mich durch Vorversuche überzeugt habe.

Sein spezifisches Drehungsvermögen in 1-proz. Lösung bei circa 20° C. beträgt $\alpha_{[D]} = + 127.4$.

Wird hier die Jodreaktion, wie früher angegeben ausgeführt, so treten feine, dünne Nadeln von grauer bis graugrüner Farbe auf, die an den Kreuzungsstellen blau gefärbt erscheinen. Bei langsamem Eintrocknen erscheinen namentlich am Rande des Präparates sechsseitige Prismen, deren Basisflächen himmelblau bis schwarzblau, deren Seitenflächen grau gefärbt sind.

Fig. 4 gibt das Bild einer solchen Jodreaktion wieder.

Um nicht einen neuen Namen in die daran ohnehin überreiche Literatur einreihen zu müssen, glaube ich, gestützt auf die Jodreaktion, die bisher unbekannte Substanz als „kristallisierte Amylose“ bezeichnen zu müssen. Nähere Angaben über die Darstellung usw. sollen später folgen.

Weder die aus den angeführten Stärkesorten erhaltenen Amylodextrine noch die aus Weizenstärke dargestellte Amylose reduzieren in 1-proz. wässeriger Lösung Fehlingsche Lösung; mit Hefe angesetzt tritt keine Gärung ein.

Einer kurzen Besprechung möchte ich noch das Verhalten der Lösung der genannten kristallisierten Substanzen in Wasser zur Jodlösung unterziehen. Wurden einige Kubikzentimeter einer 1-proz. Lösung des Amylodextrins mit ein paar Tropfen Jodlösung versetzt, so färbt sich die Lösung gelb und es tritt — je niederiger die Temperatur, um so rascher — ein feiner glitzernder Niederschlag auf, der mikroskopisch das bereits bei der „Jodreaktion“ geschilderte Aussehen zeigt.

Im Polarisationsmikroskope tritt je nach Lage des Objekts abwechselnd Aufhellung bezw. Verdunkelung ein. Eine 1-proz. Lösung der Amylose färbt sich mit Jodlösung gelbbraun und gibt erst nach mehrstündigem Stehen einen flockigen Niederschlag, der mikroskopisch das bei der „Jodreaktion“ geschilderte Aussehen zeigt.

Vermischte ich die Lösung des Amylodextrins und der Amylose zu

1) Meyer, Arthur, Untersuchungen über die Stärkekörner. Jena (Fischer) 1895.

***Franz Schardinger**, Ueber die Bildung kristallisierter Fehlingsche Lösung nicht reduzierender Körper (Polysaccharide) aus Stärke durch mikrobielle Tätigkeit.*

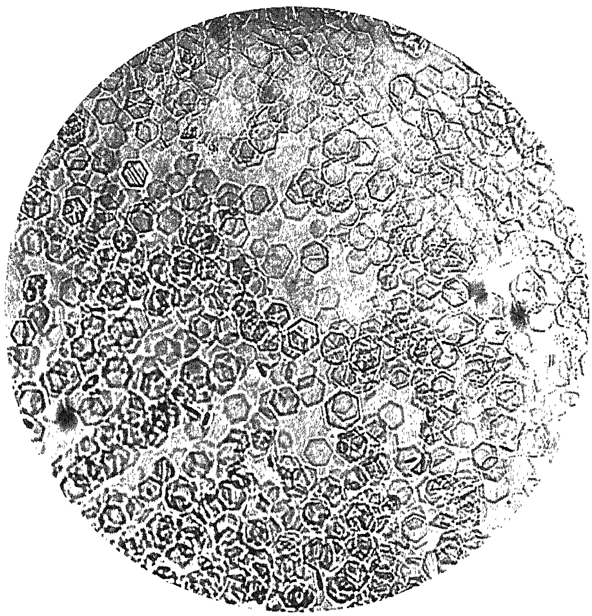


Fig. 1.

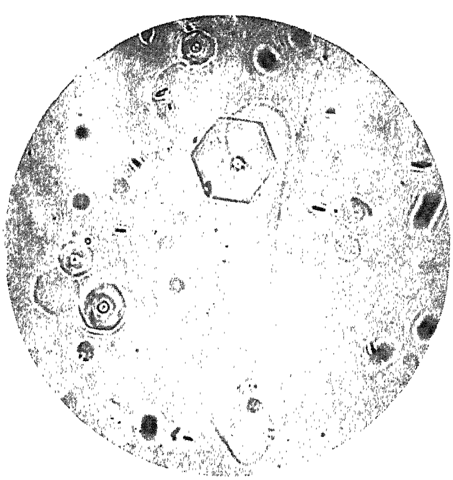


Fig. 2.

Prof. R. Grassberger phot.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Franz Schardinger, *Ueber die Bildung kristallisierter Fehlingsche Lösung nicht reduzierender Körper (Polysaccharide) aus Stärke durch mikrobielle Tätigkeit.*



Fig. 3.



Fig. 4.

Prof. R. Grassberger phot.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

gleichen Teilen, so konnte ich mit der Jodlösung keinen Niederschlag erhalten, auch nicht mit einer alkoholischen (10-proz.) Jodlösung.

Tannin, Bleiessig, Baryumhydroxyd bewirkten keine Fällung in den Lösungen beider Substanzen.

Wie früher erwähnt, wurde der „schlammige Kristallbrei der Sechsecke etc." aus dem eingeengten, alkoholischen Auszug in der Kälte erhalten. Wird die über dem Bodensatze stehende Flüssigkeit abgegossen, vom Aether befreit und mit Jodlösung versetzt, so fällt ein voluminöser, flockiger Niederschlag aus, der mit Hilfe einer Saugpumpe auf einem Filter gesammelt, einige Male mit kaltem Wasser gewaschen und dann bei gelinder Wärme im Vakuum getrocknet wurde.

Der schwarzviolett gefärbte Niederschlag, bestehend aus mikroskopisch kleinen, grauen Nadeln, zeigt Metallglanz, ist in warmem Wasser leicht, etwas schwerer in Weingeist löslich.

Ein Teil des Niederschlages wurde in Wasser gelöst, mit schwefliger Säure entfärbt, der Ueberschuß an letzterer im Vakuum möglichst entfernt, die Lösung mit Ba $(OH)_2$ neutralisiert, gelinde erwärmt und filtriert. Im eingeengten Filtrate kristallisierten nun wieder die sechsseitigen, feinen Täfelchen und derbere, prismatische Kriställchen aus. Es ist möglich, daß auch dieser Weg zur Gewinnung der kristallisierten Stärke-Umwandlungsprodukte, vielleicht auch zu ihrer Trennung gangbar gemacht werden kann.

Zum Schlusse möchte ich bemerken, daß mir weitergehende theoretische Betrachtungen, als sie sich aus dem vorgebrachten Tatsachenmateriale von selbst ergeben, zurzeit verfrüht erscheinen. Jedenfalls ist ein Erfolg verheißender Weg betreten, da schon die Gewinnung kristallisierter Produkte, die sicher zwischen dem Amylum und den Zuckern stehen, einen Fortschritt bedeutet.

Mit großer Wahrscheinlichkeit geht ferner aus den Versuchen hervor, daß das Auftreten der „Jodreaktion" der Stärke nicht einer eigenen in der Stärke enthaltenen und von ihr verschiedenen Substanz zuzuschreiben ist, sondern daß durch die Einwirkung des Jods vermutlich unter Beteiligung des Sauerstoffes der Luft eine spezifische Aenderung in physikalischer (optischer) Beziehung eintritt.

Dem Auflösungsvermögen des Bacillus macerans gegenüber „Bindesubstanzen", mögen sie Pektine, Hemicellucosen etc. heißen, ist es offenbar zu verdanken, daß er auch die Stärke in so vollständiger Weise auseinander zu quirlen vermag.

Besteht doch nach Annahme französischer Forscher der Kleister im wesentlichen aus gelöster Amylose, die durch eine unlösliche, schleimige Masse, das Amylopektin, verdickt sein soll[1]).

Tafelerklärung im Texte.

Die Vergrößerung beträgt bei Fig. 1, 3, 4: 1:300, bei Fig. 2: 1:600.

---

1) Nach einem Referate im Chem. Centralblatt. 1906. II. Sem. p. 1727.

Originalreferate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Nachdruck verboten.

Aus dem technisch-wissenschaftlichen Laboratorium des Instituts für Gärungsgewerbe.

Henneberg, W., Zum Verhalten der Kulturheferassen in zusammengesetzten Nährlösungen. (Wochenschr. f. Brauerei. 1907. No. 40—45. Mit Abbildungen.)

Die zu den Versuchen benutzten, im Institut im großen gezüchteten Heferassen waren 2 obergärige Brauereihefen A (niedrigvergärend) und B (hochvergärend), 2 Brennereihefen Rasse II und XII und 3 untergärige Bierhefen D (mittelvergärend), H und K (hochvergärend). Um möglichst gleiches Aussaatmaterial für die Versuche zu erhalten, wurden diese 7 Heferassen zunächst 10mal in derselben Würze hergezüchtet. Schließlich wurden die Hefen 2mal je 24 Stunden in sterilem destillierten Wasser bei 2° C gewässert, damit die Würzebestandteile nach Möglichkeit entfernt wurden. Von den dickbreiigen Hefemassen wurden danach abgezählte Tropfen in je 50 ccm der betreffenden Nährlösungen eingebracht.

Bei der ersten Einimpfung sind die Hefezellen trotz des zweimaligen Auswaschens in destilliertem Wasser mit Reservestoffen, die aus der Würze herstammen, in reichlichem Maße angefüllt. Auch in sehr ungünstigen Nährlösungen werden sich solche Hefezellen zunächst noch gut vermehren können. Ob irgend eine Lösung günstig oder ungünstig ist, läßt sich also erst bei wiederholter Führung, wenn jedesmal aus dem vorhergehenden das folgende Kulturgefäß geimpft wird, entscheiden. Aus demselben Grunde war das Impfmaterial stets möglichst klein zu wählen.

In den einzelnen Versuchsreihen wurde die Anzahl der möglichen Führungen, die Art der Gärung, der Schaum- und Bodensatzbildung, die „Flockigkeit", das mikroskopische Aussehen der Hefe, die Säurezunahme und schließlich meist auch die Anzahl der toten Zellen festgestellt.

Als Nährlösungen kamen zunächst solche mit Ammoniaksalzen als Stickstoffnahrung zur Anwendung. Die Lösungen enthielten in destilliertem Wasser außer 0,5 Proz. s. phosphors. Kalium, 0,2 Proz. schwefels. Magnesium, 5 Proz. Rohrzucker, 0,3 Proz. eines der folgenden Ammoniumsalze: weinsaures, schwefelsaures, salzsaures, salpetersaures, oder s. phosphorsaures Ammonium. In Parallelversuchen wurden genau dieselben Lösungen mit Kreidezusatz untersucht.

Die zweite Versuchsgruppe enthielt in wechselnden Mengen Asparagin (0,075—0,9 Proz.) bei verschiedenen Salzmengen (0,05—1,5 Proz. s. phosphors. Kalium und 0,02—0,6 Proz. schwefels. Magnesium) und 5 Proz. Rohrzucker. Der Einfluß von Kreidezusatz wurde auch hier eingehend untersucht. Andere Nährlösungen erhielten zur Grundlösung: 0,3 Proz. Asparagin, 0,5 Proz. s. phosphors. Kalium, 0,2 Proz. schwefels. Magnesium, 5 Proz. Rohrzucker, einen Zusatz von einem folgender Stoffe: 0,1 Proz. Kochsalz, 0,1 Proz. Chlorcalcium, 0,1 Proz. Kaliumsulfat, 0,01 Proz. Eisensulfat, 1 Proz. Calciumlaktat, 0,1 Proz. Gips, 0,1—0,6 Proz. Soda, 0,5 Proz. kohlens. Kalium oder

0,1 Proz. kohlens. Magnesium. Ferner wurden ähnliche Asparaginlösungen (0,3—0,6 Proz.) mit 10—15 Proz. Rohrzucker oder mit Zusatz von einem der folgenden Stoffe: 1 Proz. Dextrin, 0,3 Proz. weinsaurem Ammonium, 0,5 Proz. Pepton, 0,5 Proz. Kalkphosphat oder 0,5 Proz. Dikaliumphosphat geprüft.

Die dritte Versuchsgruppe enthielt bei gleicher Grundlösung Pepton (0,5 Proz.) und 0,1 Proz. Chlorcalcium oder 0,1 Proz. Chlorcalcium und zugleich Kreide.

Die vierte Versuchsgruppe bestand aus einer größeren Flüssigkeitsmenge (500 ccm), um den Verlauf der Gärung und die Endvergärung festzustellen.

Lösung A enthielt 0,3 Proz. Asparagin, 0,5 Proz. Monokaliumphosphat, 0,2 Proz. Magnesiumsulfat und 15 Proz. Rohrzucker.

Lösung B hatte dieselbe Zusammensetzung, nur statt 0,5 Proz. Monokaliumphosphat 0,5 Proz. Dikaliumphosphat.

Lösung C enthielt 0,2 Proz. s. phosphors. Ammonium, 0,2 Proz. Monokaliumphosphat, 0,1 Proz. Magnesiumsulfat und 15 Proz. Rohrzucker.

Diese 3 Lösungen kamen ohne weiteren Zusatz zur Anwendung oder mit einem Zusatz eines der folgenden Stoffe: 2 Proz. Gips, 2 Proz. Kalkphosphat, 0,6 Proz. Chlorcalcium, 2 Proz. milchsauren Kalk, 2 Proz. kohlensauren Kalk, 0,6 Proz. Soda oder 0,6 Proz. Kaliumsulfat.

Benutzt wurde in den Lösungen der vierten Versuchsgruppe die Brennereihefe Rasse II, in Lösung C ohne Zusatz, mit Zusatz von 2 Proz. Gips, 2 Proz. Calciumphosphat oder 2 Proz. Calciumkarbonat, außerdem noch untergärige Bierhefe K der Versuchsbrauerei (5 g auf 500 ccm). Außer diesen Versuchen mit der Fabrikhefe kamen in allen Fällen absolute Reinkulturen zur Anwendung.

Von den Versuchsergebnissen können an dieser Stelle nur einige angeführt werden, die Gesamtergebnisse sind am Schluß der ausführlichen Arbeit l. c. zusammengestellt.

Morphologische Beobachtungen: Die Bierhefen sind meist rund, während die Brennereihefen, und zwar besonders Rasse XII, in den genannten Nährlösungen in hohem Grade variieren. (Vergleiche die Abbildungen der ausführlichen Arbeit.)

Die obergärige Bierhefe B und die Brennereihefe Rasse II neigen zur Ausbildung großer, runder Zellen, während die Brennereihefe Rasse XII häufig große, unregelmäßig geformte Zellen entstehen läßt. Vielzellige Sproßverbände bilden nur die 4 obergärigen Hefen. Für Rasse II ist dies besonders bemerkenswert, da sie, wie Verf. früher zeigte, in Würze niemals solche aufweist. Rosettenförmige Verbände finden sich öfters bei Rasse II und XII, seltener bei den untergärigen Hefen H und K. Sie deuten wohl ein gehemmtes Sprossungsvermögen an. Oftmals zeigt Hefe B ganz auffallende Verdickungen der Zellhäute. Bei Rasse XII ist dies ähnlich, während die übrigen Hefen viel weniger dazu neigen. Hefe B zeigt nicht selten Ablösungen der äußeren Zellhäute. In den Vakuolen tritt häufig ein heller großer Fetttropfen auf. Es hat sich aus dem mikroskopischen Bilde gezeigt, daß bei längerer Züchtung die Hefen nur in Peptonlösungen und in Asparaginlösungen, welche durch Soda, Kaliumkarbonat oder Kreide neutralisiert wurden, normal waren. Die Zellhautverdickung war meist auf zu große Salzmengen zurückzuführen. Ammoniumsalze üben bei Hefe B auch in Gegenwart von Kreide einen besonderen Reiz

auf das Dickenwachstum der Zellwände aus. Die Zellformen sämtlicher 7 Heferassen werden, wie auch die Abbildungen zeigen, bei gleicher Ernährung (z. B. Ammoniumsalzen) öfters auffallend ähnlich.

Ungewöhnlich geformte, amöbenähnliche Zellen treten bei Rasse II und XII in der dritten und vierten Führung in manchen Asparaginlösungen auf. Wie die der ausführlichen Arbeit beigegebenen Zeichnungen dartun, sind solche Zellformen bis zu einem gewissen Grade vererbbar, indem sämtliche Zellen eines Sproßverbandes die gleiche, ungewöhnliche Form aufweisen.

Das Absterben der Hefezellen tritt bei Hefe A und den 3 untergärigen Hefen in der Regel am frühesten, bei Rasse XII und Hefe B am spätesten ein.

Bei saurer Reaktion der Nährlösung sterben die Hefezellen meist schnell, dagegen bei neutraler oder schwach alkalischer langsamer oder bedeutend später. Manche Kalksalze, wie Chlorcalcium, Gips, Calciumphosphat, milchsaurer Kalk verzögern das Absterben (vgl. das folgende Referat). Im allgemeinen sterben die Zellen desto schneller ab, je öfter die Hefe geführt wird. Hieraus muß man schließen, daß die betreffenden Nährlösungen auf die Dauer nicht zuträglich waren.

Flockenbildung konnte bei Hefe B von der fünften Führung, bei Rasse XII von der siebenten Führung in Würze wahrgenommen werden. Zwischen dieser und der Flockenbildung der untergärigen Bierhefen ist aber ein großer Unterschied, indem erstere infolge ihrer vielzelligen Sproßverbände einen sehr lockeren Bodensatz bilden. Dann ist auch darin ein bemerkenswerter Unterschied zu finden, daß die obergärigen Hefen sowohl bei saurer wie neutraler und alkalischer Reaktion der Nährlösung flockig werden können, während dies bei den untergärigen Hefen in sauren Ammonium- und sauren Asparaginlösungen fast niemals der Fall ist. Letztere zeigen nur in neutralen, alkalischen oder schwachsauren Nährlösungen „Flockigkeit" in sehr starkem Grade.

Unter bestimmten Ernährungsverhältnissen können sämtliche Heferassen mehr oder weniger flockig werden. Dies kann man z. B. in Peptonlösungen beobachten. Mikroskopisch läßt sich nicht entscheiden, ob es sich hier etwa um Peptonteilchen handelt, welche die Zellen mechanisch zusammenkleben. Rasse XII bildet in manchen Lösungen bisweilen äußerst vielzellige Verbände, so daß die Hefe auf dem Boden liegt, die Flüssigkeit fast blank bleibt und keine Spur Schaum sich trotz der lebhaften Gärung zeigt.

Gelbfärbung oder rötliche Färbung der Nährlösungen war nur bei den 4 obergärigen Hefen und zwar am häufigsten bei Hefe A und B zu bemerken. Es waren neutrale oder schwach alkalische Lösungen, ferner saure Peptonlösungen in manchen Führungen, welche diese Erscheinungen zeigten. Da auch in reiner Chlorcalciumlösung diese Färbung auftritt, so kann sie nicht allein auf Magnesiumsalze zurückgeführt werden. Ein auffallend reichlicher und lange Zeit sich haltender Schaum war in 28 Lösungen bei Rasse II zu beobachten. Filtriert man die Lösungen von der Hefe klar ab und schüttelt erstere kräftig, so bleibt der entstehende Schaum oft tagelang vorhanden. Es scheidet diese Hefe also eiweißähnliche Stoffe aus. Es ist dies offenbar auch die Ursache der durch Rasse II so häufig in Kartoffelbrennereien hervorgerufenen gefürchteten Schaumgärung. Die eiweißhaltigen Blasen platzen nicht, so daß die gärende Maische überfließen muß. Bestimmte

Stoffe, wie Kalkphosphat und milchsaurer Kalk, begünstigen die Schaumgärung in den Laboratoriumsversuchen.

Betreffs der in den Lösungen entstehenden Hefemenge ist zu bemerken, daß die obergärigen Hefen (besonders Rasse XII und Hefe B) sich viel stärker als die untergärigen vermehren. Unter bestimmten Verhältnissen vermehrt sich die Hefe kräftig, ohne daß dementsprechend eine lebhafte Gärung eintritt. Besonders bei späteren Führungen, wenn die Hefe geschwächt war, ließ sich dies häufiger feststellen.

Man kann annehmen, daß die Lösungen um so günstiger für die Hefen sind, je häufiger eine Uebertragung in derselben Lösung mit gutem Erfolg ausgeführt werden kann. Im allgemeinen verhalten sich alle Hefen ähnlich, doch sind die untergärigen Bierhefen und die Hefe A weit empfindlicher gegen ungünstige Lösungen als die obergärigen Hefen B, II und XII. Die obergärige Hefe A ist niedrig vergärend wie Hefe Saaz. Es kann kein Zweifel sein, daß die große Empfindlichkeit der Saazhefen gegen ungünstige Nährlösungen, hohe Temperaturen, Alkohol-, Säuremengen, Trockenheit, Lagerung u. dergl. auch die geringere Vergärung in Zuckerlösungen (Würzen) bedingt. Saazhefen sind also nichts weiter als schwache Heferassen.

Ungünstig für die untergärigen Hefen und für Hefe A sind, da nur eine einzige Führung mit Erfolg möglich war, fast sämtliche sauren Lösungen mit Ammoniumsalzen oder Asparagin. Etwas günstiger (2 Uebertragungen waren möglich) sind schwach saure Lösungen mit viel Asparagin und wenig Salzen. Durch Kreidezusatz werden sämtliche Lösungen sehr günstig (3 bis viele Uebertragungen). Dasselbe ist der Fall, wenn durch Soda, Potasche, Magnesiumkarbonat, Dikaliumphosphat usw. die saure Reaktion zum Verschwinden gebracht ist. Eine Ausnahme machen nur die Peptonlösungen, die auch bei saurer Reaktion sehr günstig sind. Ebenso ist ein ganz geringer Zusatz von Würze zu Asparaginlösungen von günstigem Einfluß.

Von den obergärigen Hefen ist Rasse XII am meisten widerstandsfähig. Bei den obergärigen Hefen mit Ausnahme der Hefe A konnten in sämtlichen geprüften Lösungen mindestens 2 Uebertragungen stattfinden.

Ungünstig sind für die obergärigen Hefen die stark sauren oder zu geringe Asparagin- nnd Salzmengen enthaltenden Lösungen. Zusätze, welche die Reaktion neutral oder schwach alkalisch gestalten, ebenso Zusätze von Kalkphosphat, milchsaurem Kalk oder Pepton wirken günstig.

Versuche mit verschieden konzentrierten Asparaginlösungen ergaben, daß die Heferassen im allgemeinen hier wenig empfindlich sind. Viel Asparagin und wenig Salze (0,9 Proz. Asparagin, 0,05 Proz. s. phosphors. Kalium, 0,02 Proz. schwefels. Magnesium, 5 Proz. Rohrzucker) hatten das beste Ergebnis. Da ein Kreidezusatz auch die am meisten konzentrierte Lösung (0,9 Proz. Asparagin, 1,5 Proz. s. phosphors. Kalium, 0,6 Proz. schwefels. Magnesium, 5 Proz. Rohrzucker) meist sehr günstig gestaltet, so zeigt sich auch hier das Vorhandensein oder das Fehlen der Säure als ausschlaggebend für das Ergebnis.

In der vierten Versuchsgruppe (s. oben) ließ sich der Einfluß verschiedener Stoffe auf den Gärverlauf und die Alkoholausbeute erkennen. Ein Zusatz von Kreide, Gips, Soda oder Kalk-

phosphat zur Lösung A, ein Zusatz von Kreide zur Lösung B und schließlich ein solcher von Soda, milchsaurem Kalk oder Kreide zur Lösung C erhöhten die Alkoholmenge sehr bedeutend. Milchsaurer Kalk beschleunigt in starkem Grade die Vergärung. Auf untergärige Bierhefe wirkt auch Kalkphosphat in ähnlicher Weise anregend.

Es zeigte sich ferner, daß die durch das Dikaliumphosphat alkalische Lösung B weit günstiger als die saure Lösung A und ebenso, daß beide Asparaginlösungen (A und B) bedeutend günstiger als die Lösung C mit Ammoniakstickstoff und saurer Reaktion waren.

Calcium ist zum Wachstum der Hefe, wie bereits andere nachwiesen, unnötig. Zur guten Vergärung ist Soda, Pottasche u. dergl. genau so wertvoll wie Kreide (vergl. die frühere Mitteilung des Verf. in dieser Zeitschrift. Bd. XX. No. 8/9 und das folgende Referat).

Die stärkste Säurezunahme wird durch Rasse II hervorgerufen, dann folgen in der Säuerungsstärke Hefe A und Rasse XII. Die Lösung mit viel Asparagin (0,9 Proz.) und wenig Salzen wird durch Hefe A und die 3 untergärigen Hefen verhältnismäßig stark gesäuert (10 ccm = 1,4—1,8 ccm $^1/_{10}$ Natronlauge), dagegen hat die Lösung mit wenig Asparagin (0,07 Proz.), bei Hefe H (0,2), A und Rasse XII (0,5 ccm) nur eine geringe Säurezunahme. Letztere wird natürlich bedeutend größer, wenn viel Zucker (15 Proz.) zur Anwendung kommt und die Hefe sämtlichen Zucker vergärt. In letzterem Fall zeigte die Lösung mit milchsaurem Kalk die größte Säurezunahme, dann folgen die Lösungen mit Calciumphosphat, Chlorcalcium und Gipszusatz.

Hefe B bedingte in vielen Lösungen einen eigentümlichen Geruch, der vor allem wohl auf Schwefelwasserstoffbildung zurückzuführen war. Aus Magnesiumsulfat machte besonders Rasse II reichliche Mengen von Schwefelwasserstoff frei.

Hervorzuheben ist noch, daß niemals bei irgend einer Hefe in den geprüften vergorenen 74 Lösungen eine Bildung von oxalsauren Kalkkristallen beobachtet werden konnte. Dies deutet auch darauf hin, daß bei der gewöhnlichen Würzegärung die Kristalle aus der Würze stammen und daß die Kulturheferassen nichts damit zu tun haben.

Wie sich also zeigen ließ, vermag ein Zusatz von einer geringen Menge kohlensaurem Alkali (Soda, Kreide Pottasche u. dergl.) eine sonst ungünstige Nährlösung in erheblichem Grade günstiger zu gestalten. Möglicherweise läßt sich „Bios" in Form solcher Stoffe einer Nährlösung zusetzen.

Die Untersuchungen sind inzwischen nach den verschiedensten Richtungen hin weiter fortgesetzt. Es wird über die Ergebnisse später an dieser Stelle berichtet werden. Autoreferat.

Henneberg, W., Ueber den Einfluß von Mehl und anderen stickstoffhaltigen Stoffen, Salzen und Säuren auf die Lebensdauer und Gärkraft der Hefen in destilliertem Wasser mit Rohrzucker und in Würzen. (Wochenschrift für Brauerei. 1908. No. 6—10.)

Die von Lange und seinen Mitarbeitern zuerst beobachtete merkwürdige Tatsache, daß untergärige Bierhefe bei der Triebkraftbestimmungsmethode fast keine Triebkraft mehr aufweist, sobald Gerste-, Weizen- oder Roggenschrot zu der Zuckerlösung

in destilliertem Wasser zugefügt war, gab den Anlaß zu den vorliegenden Untersuchungen des Verf., die nach anderer Richtung hin von Dr. Fr. Hayduck ergänzt und erweitert wurden.

Verf. stellte die Versuche in der Weise an, daß er in kleinen Erlenmeyer-Kolben 100—200 ccm destilliertes Wasser mit 10 Proz. Rohrzucker mit abgewogenen Mengen Mehl, Pepton usw. und bestimmten Hefemengen zusammenbrachte. Die Einwirkung der genannten und anderen stickstoffhaltigen Stoffen auf die Gärung wurde meist in Literflaschen durch die Gewichtsabnahme, seltener durch die Triebkraftmethode festgestellt. Geprüft wurden vor allem untergärige Bierhefen und Brennereihefen.

Verf. untersuchte zunächst das Verhalten der Hefen in destilliertem Wasser ohne und mit Rohrzucker, ebenso bei Gegenwart von Kalksalzen, basischen Salzen, Karbonaten und anderen Salzen. Es folgten dann unter gleichen Bedingungen Versuche über Weizen- und Roggenmehleinfluß ohne und mit den verschiedensten Zusätzen (wie Kalksalzen, Karbonaten usw.), ferner Versuche über Einwirkung von Hühnereieiweiß, Eigelb, Pepton, den verschiedensten organischen Stickstoff- und Ammoniumverbindungen. Ueberall, wo sich unter den genannten Verhältnissen eine Schädigung der Hefe ergab, wurde die „Entgiftung" durch Salzzusätze usw. geprüft.

Zur Erklärung der erhaltenen Ergebnisse mußten weiterhin auch Versuche über den Einfluß von Säuren ohne Zusätze und mit Kalksalzzusätzen angestellt werden. Schließlich wurden auch in Würzen die Einwirkungen von Kalk- und Sodazusätzen, von Weizenmehl ohne und mit Zusatz von Kalksalzen und ebenso der Einfluß von Peptonzusatz auf die Hefen näher untersucht.

Die Untersuchungen über den Einfluß von Ammoniumsalzen, verschiedenen organischen Stickstoffverbindungen, Säuren u. dergl. in Zuckerlösungen sind gemeinsam mit dem Assistenten der Abteilung, Herrn Dr. Schücking, ausgeführt worden.

Am Schlusse der ausführlichen Arbeit findet sich eine Uebersicht über sämtliche Ergebnisse und über die aus diesen zu ziehenden Schlußfolgerungen. An dieser Stelle kann nur das Wichtigste im Anschluß an die Veröffentlichung in Bd. XX. No. 8/9 dieser Zeitschrift mttgeteilt werden:

Mit Ausnahme des oxalsauren Kalkes verhindern sämtliche geprüften anorganischen und organischen Kalksalze das frühzeitige Absterben der Hefen in destilliertem Wasser mit Zucker. Lösungen von 1—3 Proz. Chlorcalcium färben die Brennereihefen (nicht die untergärigen Hefen) nach etwa 3 Wochen rötlich.

Oxalsaurer Kalk, der in den ersten Stunden ohne Einfluß ist, verzögert am 1. und 2. Tage das Absterben der Hefezellen in geringem Grade.

Sämtliche Karbonate, alkalischen Salze und Basen verhindern unter gleichen Verhältnissen in gewissen Mengen das Absterben und sind auf die Vergärung von günstigem Einfluß. Die Hefe verträgt in Zuckerlösungen eine alkalische Reaktion dauernd sehr gut, soweit die Versuche zeigen. Die ungünstige Wirkung des destillierten Wassers mit Rohrzucker wird ebenfalls von den verschiedensten Salzen, wie z. B. von s. phosphorsaurem Kalium, schwefelsaurem Magnesium, Natriumsulfid, ameisensaurem Natrium und Kaliumsulfat bei genügender, d. h. etwas stärkerer Konzentration mehr oder

Ueber die abtötende Wirkung des Mehls auf untergärige Bierhefe ist bereits in Bd. XX. No. 8/9 dieser Zeitschrift berichtet. Es mag hier noch hervorgehoben werden, daß, wie Verf. beobachtete, längeres Stehen der gezuckerten Mehlaufschwemmung bei 45 ^{0} C die schädliche Einwirkung derselben erheblich steigert, so daß bei der nachfolgenden Prüfung auf untergärige Bierhefe in 14 Minuten bereits 90 Proz. Zellen abstarben. Unter diesen Bedingungen ist auch ein beschleunigtes Absterben der Brennereihefe zu bemerken. Letztere erweist sich im Alter oder nach 24-stündigem Lagern unter destilliertem Wasser, d. h. also in abgeschwächtem Zustande, ganz allgemein gegen die Mehleinwirkung ebenfalls als empfindlich.

Die gleichen Versuche mit den verschiedensten Hefearten aus der Sammlung des Instituts ergaben, daß Saccharomyces pastorianus, S. ellipsoideus, Sch. Pombe, S. thermantitonum, ferner Weinhefen, Kahmhefen, Exiguushefen, S. anomalus, S. Ludwigii, S. Logos, Kefirhefen, Torula-Arten usw. ebenfalls durch die genannte Mehlbehandlung abgetötet wurden. Sie starben ebenfalls nicht ab, sobald für die Zuckerlösung Leitungswasser an Stelle des destillierten Wassers zur Anwendung kam.

Gegen destilliertes Wasser mit Zucker allein (ohne Mehlzusatz) sind S. Ludwigii, S. turbidans, Kefirhefen und Weinhefen schon besonders empfindlich. Destilliertes Wasser allein tötet S. apiculatus in kurzer Zeit.

Es gelingt durch die genannte Mehlbehandlung, eine mit Kahmhefe infizierte Preßhefe fast völlig von ersterer zu befreien. Nach 2 Stunden war der Kahmhefegehalt von 50 Proz. bis auf 9,3 Proz. zurückgegangen.

Soweit die Versuche zeigen, werden Heubacillen und Kulturmilchsäurebacillen unter diesen Bedingungen nicht abgetötet. Von Schimmelpilzen starben Oidium, „Penicillium glaucum“, Aspergillus oryzae und Mucor Rouxii durch die Mehlbehandlung zum größten Teile ab, doch sind diese Ergebnisse noch nachzuprüfen, weil bereits in den Kontrollversuchen viele Zellen absterben.

In allen Fällen heben dieselben Stoffe, die das Absterben der Zellen in destilliertem Wasser mit Zucker verhindern, auch die schädliche Wirkung des Mehles auf. Weinsaures Ammonium verzögert das Absterben der Hefezellen nur in geringem Grade.

Zusatz von Maismehl, welches an und für sich ohne schädlichen Einfluß ist, zum Weizenmehl hebt zunächst die schädliche Wirkung des letzteren völlig auf, jedoch nicht dauernd. Ein Zusatz von Würzetrub zum Weizenmehl ist ohne Einfluß, während ein Zusatz von Pepton (2,5 Proz.) zum Mehl auf das Absterben verzögernd einwirkt.

Mittels Glyzerin, Pepsin oder dünner Schwefelsäure hergestellter klarer Weizenmehlauszug (Fr. Hayduck) tötet ebenfalls die untergärige Bierhefe ab. Auch hier wird durch die oben genannten Zusätze die schädliche Einwirkung vollständig aufgehoben.

Genau ebenso ist es mit der schädlichen Wirkung des Hühnereiweißes und des Pepton-Witte (0,1—2 Proz.). Pepton-Aschmann ist unschädlich. Bemerkenswert ist, daß das Pepton-Witte nur in den ersten 2—3 Stunden auf die Triebkraft der untergärigen Bierhefe in destilliertem Wasser mit Zucker ungünstig einwirkt, was, wie Verf. zeigte, ebenfalls auf das Absterben der Zellen zurückzuführen ist. Die überlebenden Zellen vermehren sich nach dieser Zeit

sehr stark, so daß die Vergärung nach 24 Stunden und später stark angeregt wird.

Papayotin in Mengen von 0,1 Proz. hat ebenfalls nur auf die untergärige Bierhefe eine schädigende Einwirkung, doch nur in geringem Grade. Größere Mengen sind dagegen günstig.

Asparagin ist in größeren Mengen nur in der ersten Zeit in manchen Versuchen unter den genannten Bedingungen auf die untergärige Bierhefe von geringem schädlichen Einfluß. Eine Menge von 0,1 Proz. Asparagin ist dagegen günstig.

Lecithin (in Mengen von 0,1 Proz. wie die folgenden Stoffe) tötet in destilliertem Wasser mit Zucker die untergärige Bierhefe in 24 Stunden in sehr erheblicher Menge ab, die Brennereihefe erst in 48 Stunden. Acetamid, Solanin, Harnsäure sind unter den genannten Bedingungen unschädlich. Nitroprussidnatrium, Hypoxanthin und Uracil sind für Bierhefe ohne Einfluß, ebenso Ferrocyankalium, Succinimid und Guanidin für Brennereihefen.

Harnstoff, Leucin, Kasein, Aldehydammoniak, Pepsin und Anilin töten untergärige Bierhefen und Brennereihefen nicht ab, sondern regen die Vergärung stark an. Für Bierhefe ist dies auch bei Ferrocyankalium, Ferricyankalium, Tyrosin und Phenylalanin der Fall.

Gärungshemmende Stoffe für beide Hefearten sind Metaphenylendiamin und Diphenylamin, außerdem für Bierhefe Guanidin und für Brennereihefe Nitroprussidnatrium und Ferricyankalium. Aus beiden Blutlaugensalzen und ebenso aus Nitroprussidnatrium entsteht durch Einwirkung beider Hefearten Blausäure.

Sehr beachtenswert sind die Versuche unter gleichen Verhältnissen mit Ammoniaksalzen. Anorganische Ammoniumsalze wirken bei stärkerer Konzentration (2—4 Proz.) bisweilen günstig, bei geringer (0,1 Proz.) auf beide Hefen sehr schädlich, so daß z. B. nach 24 Stunden 98 Proz. Zellen abgetötet sind. Kohlensaures Ammonium ist allein sehr günstig. Die organischen Ammoniaksalze (0,1 Proz.) sind von günstigem Einfluß, nur zitronensaures und oxalsaures Ammonium wirken vom 2. Tage an auf die Bierhefe ungünstig ein. Ein Zusatz von Kalksalzen (Chlorcalcium, Gips) zu den Ammoniumsalzen verringert die schädliche Einwirkung, hebt sie gänzlich auf oder übt einen anregenden Einfluß aus. Bisweilen trat in diesen Versuchen ein deutlicher Geruch nach Fuselalkohol auf, was beachtenswert ist.

Freie Säuren wirken in gewissen Mengen in Gegenwart von Zucker manchmal giftiger (Oxalsäure), manchmal weniger giftig (Schwefelsäure bei obergäriger Bierhefe B) als in reinem destillierten Wasser. Kalksalze verringern auch hier die schädliche Einwirkung der Säuren, bei Kaliumsulfat ist dies auch für Brennereihefe Rasse II der Fall.

Die organischen Säuren (0,1 Proz.) sind teilweise bei Gegenwart von Zucker in destilliertem Wasser vielfach ganz auffallend schädlich. Essigsäure, Valeriansäure und Buttersäure sind für Brennereihefen ungiftig oder sogar anregend, dagegen für untergärige Bierhefen sehr schädlich.

Benzoesäure (0,1 Proz.) läßt keine Gärung aufkommen, tötet aber die Hefezellen nicht ab. Bereits 0,05 Proz. Benzoesäure verringert schon erheblich die Gärkraft.

Schwefelsäure, Phosphorsäure und Oxalsäure (z. B.

schon in Mengen von 0,025 Proz.) sind besonders für die untergärige Bierhefe sehr giftig.

Versuche mit Würzen und Kartoffelmaischen: Zusätze von Soda (bis 1 Proz.) und Kreide verzögern das Absterben der Hefezellen in Würzen in auffallender Weise. Alkalische Reaktion wird auch hier dauernd gut vertragen.

Soda, Kreide, Chlorcalcium, organische Kalksalze beeinflussen in günstiger Weise die Flockenbildung der untergärigen Bierhefen.

In mit Milchsäure angesäuerten Kartoffelmaischen geht bei Zusatz von Kreide oder Soda die Vergärung schneller als ohne Zusätze vor sich. Dies dürfte natürlich vor allem auf die Verringerung des Säuregehaltes, dann aber auch auf das langsamere Absterben der Zellen zurückzuführen sein.

Ein Mehlzusatz zur Kartoffelmaische übt keinen schädlichen Einfluß auf die Hefezellen aus.

In konzentrierteren oder wenig verdünnten Würzen wirkt Mehl auf die untergärige Bierhefe ebenfalls sehr schädlich ein. In genau gleicher Weise hergezüchtete Reinkulturhefen zeigen unter diesen Bedingungen den charakteristischen Unterschied zwischen untergärigen Bierhefen und Brennereihefen, indem nur erstere abgetötet werden. Sobald Kalksalze, z. B. Leitungswasser der Würze zugesetzt werden, ist der Mehlzusatz nirgends mehr schädlich, sondern überall anregend.

Peptonzusatz zur Würze übt eine anregende Wirkung aus.

Zusammenfassung und Schlußfolgerungen.

Wie wir oben sahen, sind Zusätze von Mehl, Eiereiweiß, Pepton, Lecithin und anorganischen Ammoniaksalzen zum gezuckerten destillierten Wasser in ihrer Einwirkung auf Hefe sehr ähnlich. Die schädliche Einwirkung verschwindet, sobald Kalksalze oder Karbonate oder Basen in sehr geringer Menge, oder andere Salze in etwas größerer Konzentration der Zuckerlösung zugesetzt werden. Mehl, Eiereiweiß, Pepton, Lecithin, zitronensaures und oxalsaures Ammonium töten die untergärigen Bierhefen viel stärker als die Brennereihefen ab. Nur die anorganischen Ammoniumsalze sind für beide Hefen annähernd gleich schädlich.

Wie die Versuche ferner ergaben, vermögen auch neutrale Kalksalze in gewissen Mengen die schädliche Einwirkung von Säuren zum Verschwinden zu bringen. Es liegt also der Schluß nahe, daß unter den mitgeteilten Bedingungen im Innern der Hefezellen freie Säuren entstehen, welche bei Abwesenheit der „neutralisierenden“ Stoffe tödlich wirken. Gips, Chlorcalcium u. dergl. wirken hier vielleicht durch Verbindung mit Säuren oder durch Einfluß auf die Dissoziation. Besonders einfach liegen die Verhältnisse bei den Ammoniaksalzen. Diese sind um so schädlicher, je giftiger die mit dem Ammoniak verbundenen Säuren sind. Kohlensaures Ammonium ist unschädlich; schwefelsaures, phosphorsaures und salzsaures Ammonium dagegen sind sehr giftig. Zitronensaure und oxalsaure Ammoniaksalze wirken auf untergärige Bierhefen schädlich, weil Zitronensäure und Oxalsäure für diese Hefearten sehr giftig sind.

Bei Lecithinzusatz stirbt die Hefe wahrscheinlich durch Einfluß der freiwerdenden Phosphorsäure. Aus Pepton, Eiereiweiß und Mehl könnten außer organischen Säuren, z. B. Oxalsäure, Essigsäure, Buttersäure auch anorganische, wie Schwefelsäure (Pepton) oder Phosphorsäure (Mehl) entstehen. Die chemische Analyse bringt hier wohl keine Entscheidung, da es sich natürlich nur um sehr kleine Mengen handelt, die vielleicht gar nicht aus der Zelle herausdringen oder nach dem Tode der Zelle sofort gebunden werden.

Mehl wirkt am schnellsten, d. h. nach 15—30 Minuten, Pepton und Eiereiweiß etwas weniger schnell (45 Minuten bis 2 Stunden) und die anorganischen Ammoniaksalze erst nach einigen Stunden. Die Nukleinstoffe des Mehls selbst üben möglicherweise auch eine schädliche Einwirkung auf die Hefezellen aus. Man kann auch annehmen, daß die löslichen Eiweißverbindungen begierig, d. h. schneller, die Ammoniaksalze langsamer von der Hefezelle aufgenommen und zersetzt werden.

Der sehr bemerkenswerte Unterschied in dem Verhalten gleichgezüchteter untergäriger Bierhefen und Brennereihefen (Preßhefen und obergärigen Bierhefen) bei Mehl-, Eiereiweiß- und Peptonzusatz, indem nur erstere absterben, läßt sich durch die größere Empfindlichkeit der untergärigen Bierhefe gegen allerlei schädliche Einflüsse, wie auch gegen Säuren erklären. Oxalsaures Ammonium tötet in den geprüften Mengen nur untergärige Bierhefe. Zitronensaures Ammonium schädigt ebenfalls diese Hefe in stärkerem Maße.

Wie die Versuche ergaben, ist die Brennereihefe gegen Essigsäure, Buttersäure, Valeriansäure und Oxalsäure auffallend widerstandsfähig, gegen Weinsäure und Zitronensäure ebenfalls deutlich widerstandsfähiger als die untergärige Bierhefe. Die zuerst genannten Säuren entstehen aber, wie man festgestellt hat, bei Eiweißzersetzungen im Organismus, so daß möglicherweise das verschiedene Verhalten der Hefen gegen diese Säuren auch das verschiedene Verhalten dem Mehl, Eiereiweiß und Pepton gegenüber erklärt. Anorganische Säuren dürften es vielleicht auch deshalb nicht sein, weil anorganische Ammoniumsalze für beide Hefen gleich giftig sind.

Ammoniaksalze wirken zuerst nicht, dann aber dauernd sehr schädlich; Mehl, Eiereiweiß und Pepton dagegen sind nur in den ersten Stunden schädlich, später regen sie die wenigen überlebenden Zellen zur Vermehrung und Gärung in sehr bedeutendem Maße an. Offenbar vermögen in den zuletzt genannten Fällen die Hefezellen, welche der zuerst schädlichen Einwirkung widerstanden, die allmählich durch Abbau oder Lösung freiwerdenden Mineralstoffe und ebenso die aus den toten Hefezellen gelösten Stoffe auszunutzen.

Die Tatsache, daß geringere Mengen Ammoniaksalze schädlicher als bestimmte größere sind, läßt sich wohl dadurch erklären, daß erstere leichter von der Hefezelle aufgenommen werden. Durch größere Mengen von Salzen wird wohl auch die Giftwirkung des destillierten Wassers selbst aufgehoben. In größerer Konzentration hebt auch, wie wir sahen, eine ganze Reihe von Nicht-Kalksalzen die schädliche Mehleinwirkung auf.

Aus dem vorstehenden Referat über künstliche Nährlösungen ging die völlige Untauglichkeit saurer Ammoniaksalz-Nährlösungen für untergärige Bierhefen hervor. Brennereihefen sind auch hier weniger

empfindlich. Man kann als allgemeine Regel aufstellen, daß anorganische Ammoniaksalze ohne „neutralisierende" Kalksalze oder Basen schädlich sind.

Pepton in Nährlösungen und Würzen ist stets günstig, vielleicht weil aus Pepton nur wenig Säuren im Zellinnern entstehen.

Mehl in konzentrierten oder mit destilliertem Wasser versetzten Würzen wirkt sehr ungünstig, weil neutralisierende Stoffe (Kalksalze, Basen usw.) fehlen oder jedenfalls nicht in der geeigneten Form zunächst vorhanden sind. Die Schädlichkeit der Mehleinwirkung verschwindet in Würze nach einigen Stunden von selbst, die überlebenden Zellen vermehren sich und gären dann sehr kräftig. Wir müssen auch hier annehmen, daß zu dieser Zeit die Salze aus dem Mehl und wohl auch aus den vielen toten Zellen den überlebenden zu Gebote stehen.

Die Tatsache, daß Kreide oder basische Stoffe (Soda, Potasche u. dergl.) das Leben der Hefezellen in Würzen (ohne weitere Zusätze) erheblich verlängert, erklärt sich wohl durch die Säureempfindlichkeit derselben. Für die Hefe ist also die Säure der Würze ähnlich wie für unzählige andere Pilze (z. B. für die allermeisten Bakterien) als schädlich anzusehen. Sicher sind auch bei der Gärung in Würze sich bildende saure Stoffe für die Hefezellen schädlich.

Eine Verminderung der Säure in Würze durch Zusatz von Kreide, Soda, Pottasche u. dergl. wirkt auf die Flockenbildung der untergärigen Hefen günstig. Die Hefen bekommen einen besseren „Bruch". Kalksalze (auch organische) haben ähnlichen Einfluß auf die Schleimbildung der Zellen.

Sämtliche Stoffe, welche die Einwirkung des Mehls aufzuheben vermögen, verhindern auch das Absterben der Zellen in gezuckertem destillierten Wasser. Die Ursache des Absterbens ist hier die gleiche: die Hefezelle baut ihr eigenes Reserveeiweiß ab, dabei fehlen ihr die „entgiftenden" Stoffe.

Wie leicht und weitgehend die Hefen Salze zu zersetzen vermögen, zeigt z. B. die Schwefelwasserstoffbildung aus Magnesiumsulfat, Kaliumsulfat, Calciumsulfat, Ammonsulfat, Calciumsulfit u. dergl. und ebenso das Entstehen von freier Blausäure aus rotem und gelbem Blutlaugensalz und aus Nitroprussidnatrium.

Die vorstehenden, kurz mitgeteilten Untersuchungen werden weiter fortgesetzt. Möglicherweise gewinnen wir hier einige Kenntnisse von den noch ganz unbekannten Vorgängen im Innern der Hefezelle. Für die Praxis von Wert sind jedenfalls die gewonnenen Kenntnisse über das „Kalkbedürfnis" der Hefen. Die angeführten Schlußfolgerungen sind natürlich nur theoretisch. Ob diese oder andere (vgl. Bd. XIX. No. 19) mehr Ansprüche auf Richtigkeit besitzen, läßt sich vielleicht durch weitere Versuche zeigen.

Autoreferat.

Aus dem Institut für Gärungsgewerbe und Stärkefabrikation in Berlin.

Schönfeld, F., Rommel, W. und Dehnicke, J., Experimentelle Unterlagen und Abbildungen zu dem Vortrag über: „Die Eigenschaften obergäriger Brauereihefen". (Jahrb. der V. L. B. Bd. X. p. 604)[1]).

---

1) Wochenschrift f. Brauerei. Jg. XXV. No. 9. p. 141.

Die früher mitgeteilten Untersuchungen zur Charakteristik obergäriger Brauereihefen [1]) werden von den Verff. teilweise ergänzt und durch tabellarisch geordnetes Analysenmaterial und 45 Photogramme erläutert. Die Verff. sind der Ansicht, daß nach den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchungen solche Brauereihefen als obergärig zu bezeichnen sind, welche in mehr oder weniger ausgesprochenem Maße folgende Eigenschaften in sich vereinigen:

1) beim Verrühren mit Wasser staubiger oder fast staubiger Charakter;
2) sparrige Sproßbaumbildung im Vaselineinschlußpräparat;
3) sehr geringe Vergärung mit 1-proz. Melitrioselösung;
4) Auftrieb selbst schon im kleinen Versuch mit 1—2 Liter Würze bei Zimmertemperatur unter normaler Hefengabe.

Rommel (Berlin).

Schönfeld, F. und Hoffmann, W., Welche Temperaturen genügen zur erfolgreichen Pasteurisation von hefereichen (mit Kräusen versetzten) Flaschenbieren? Zugleich ein Beitrag zum Studium der Abtötungstemperaturen für Wachstum, Zymase und Invertase ober- und untergäriger Bierhefen [2]).

Bei einleitenden Versuchen, welche mit gärenden, hefereichen, untergärigen Bieren angestellt wurden, um zu untersuchen, in welcher Weise sich Hefezellen in den verschiedenen Gärstadien gegen Temperaturen verhalten, konnte festgestellt werden, daß, wie schon früher Schönfeld und Rommel gefunden hatten [3]), bei einhalbstündiger Pasteurisation bei 50° C die Wachstumsfähigkeit untergäriger Hefen völlig vernichtet ist.

Später wurden die Versuche in der Weise erweitert, daß Flaschenbiere nach Zusatz von je $3^1/_2$ g Rohrzucker und je $^1/_2$ g gepreßter unter- und obergäriger Hefen pasteurisiert wurden. Der Erfolg war hier, daß die Hefen in gepreßtem Zustande sich wesentlich beständiger gegen Temperatureinflüsse verhielten, als Kräusenbiere mit sprossenden Hefenzellen. Wie nämlich biologische Untersuchungen ergaben, war ein Absterben der Hefen erst bei 56° C und darüber eingetreten.

Weitere Versuchsserien wurden dann, um nach Art der Bauschen Methodik durch Polarisation zu prüfen, ob ein Bier pasteurisiert ist oder nicht, wie folgt, ausgeführt:

Pasteurisiertes Bier wurde das eine Mal nach Zusatz von gleicher Menge Rohrzuckerlösung 24 Stunden der Gärung überlassen und dann polarisiert, das andere Mal wurde das Bier zur Abtötung des Invertaseenzyms aufgekocht und dann ebenfalls die Drehung des Bieres im Polarisationapparat festgestellt. Charakteristisch war, daß die unter- wie die obergärigen Hefen keine Unterschiede zeigten. Es genügte in allen Fällen eine Pasteurisationstemperatur von 60° C, um das Invertin zu töten.

Ein abweichendes Verhalten zwischen unter- und obergärigen Hefen konnte in der Abtötungstemperatur der Zymase ermittelt werden. Während die untergärigen Hefen in ihrer zymatischen Wirkung schon bei 45° C völlig lahmgelegt waren, versagte eine solche bei den obergärigen Hefen zum Teil erst bei 55° C.

Interessant war schließlich bei diesen Pasteurisationsversuchen die

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XXI. No. 1/3 p. 93.
2) Wochenschrift f. Brauerei. Jg. XXV. No. 14. p. 221—225; No. 15. p. 229—234.
3) Ebenda. Jg. XXIII. No. 40—43.

Beobachtung, daß die Vernichtung der Vermehrungsfähigkeit bei obergärigen Hefen erst bei höheren Temperaturgraden — beispielsweise bei der Weißbierhefe erst nach Pasteurisation bei 60° C — eintritt als wie bei untergärigen Hefen, welche letztere schon ihre Wachstumsfähigkeit auf Gelatine durch Pasteurisation bei 54—56° C einbüßen.

Wie daher die Versuche lehren, ist eine halbstündige Pasteurisation bei 60° C für Flaschenbiere in allen Fällen ausreichend, doch können namentlich im Winter und bei Konsumierung an Ort und Stelle auch schon niedrigere Temperatur bis zu 50° C abwärts zu erfolgreicher Pasteurisierung genügen. Autoreferat.

Lindner, P., Die bisherige Schimmelpilzforschung am Institut für Gärungsgewerbe. (Vortrag, gehalten auf dem Dozenten-Abend der Kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin im Januar 1908)[1].

Verf. gibt einen zusammenfassenden Bericht über die teils von ihm, teils von anderen unter seiner Leitung im Laufe der Jahre über verschiedene Schimmelpilze gemachten Untersuchungen, er beschreibt die teilweise durch ihn selbst eingeführten Züchtungsmethoden und deren Verwendbarkeit im Unterricht.

Besondere Berücksichtigung finden hierbei die Untersuchungen über Nectria, Epicoccum purpurascens, Botrytis cinerea, Fusisporium moschatum, Dematium pullulans, Cladosporium herbarum, mehrere Sarcinomyces-Arten, Sachsia suaveolens, Monilia variabilis, die Amylomyces-Arten und Endomyces fibuliger. Rommel (Berlin).

Delbrück, M., Wirkung der Hefengifte auf untergärige Bierhefe[2].

Die seit Jahren vom Verf. und seinen Mitarbeitern Lange, Henneberg, Ellrodt und F. Hayduck betriebenen Studien über den „physiologischen Zustand“ der Zelle bewegen sich in der letzten Zeit auf dem Gebiete von Untersuchungen über Hefengifte in den Rohstoffen der Gärungsgewerbe, worüber an dieser Stelle bereits mehrfach berichtet wurde[3]. Neuerdings wurden die Versuche zur Lösung und Abscheidung der Giftstoffe fortgesetzt und dabei gefunden, daß auch aus schnell, unter guter Lüftung, bei hoher Temperatur getrockneter Brennereihefe mit Hilfe von salzsäurehaltigem destillierten Wasser ein für Bierhefe stark giftiger Auszug gewonnen werden kann.

Die Giftwirkung kann durch gewissse Salze aufgehoben werden. Giftig wirken Zusätze von Pepton (Witte), ihre Giftwirkung wird aufgehoben durch Zusatz von mittels Alkohols nicht mehr fällbarer Trypsinverdauungsprodukte von Pepton (Witte). Rommel (Berlin).

Schönfeld, F. und Rossmann, H., Weitere Untersuchungen an obergärigen Stellhefen und deren aus Einzellkulturen herangezogenen Nachzuchten, zugleich ein weiterer Beitrag zu deren Kennzeichnung[4].

Die Stellhefen dreier obergäriger Brauereien wurden nach den bekannten Untersuchungsmethoden auf Eiweiß- und Aschengehalt, spezifisches

---

1) Wochenschrift f. Brauerei. Jg. XXV. No. 12. p. 193—196; No. 13. p. 205—208.
2) Jahrb. d. Vereins d. Spiritusfabrikanten in Deutschland. Bd. VIII. p. 18.
3) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II, Bd. XVIII. No. 10—12. p. 325; ebenda, Bd. XIX. No. 19—20. p. 585; ebenda. Bd. XXI. 1—3. p. 88—91.
4) Wochenschrift f. Brauerei. Bd. XXV. No. 19. p. 281—286.

Gewicht, Verhalten beim Verrühren mit Wasser und im Vaselineinschlußpräparat, sowie auf ihr Auftriebvermögen geprüft. Es handelte sich dabei um dauernd verhältnismäßig kalt, d. h. bei 9—12° C in den Betrieben geführte Hefen, bei denen aus diesem Grunde die Möglichkeit ähnlichen Verhaltens wie bei untergärigen Hefen vorlag.

Die Untersuchungen ergaben eine völlige Uebereinstimmung mit den für obergärige Hefen charakteristischen Merkmalen, so daß die Verff. nunmehr den Schluß ziehen, daß als obergärige Stellhefen ganz allgemein nur Hefen von bestimmten, ihnen allen gemeinsamen Eigenschaften in der Praxis zur Verwendung gelangen, d. h. daß die obergärigen Stellhefen bestimmte — wenn auch innerhalb gewisser Grenzen schwankende — charakteristische Eigenschaften besitzen.

Dieselben Hefen und noch eine vierte, in der Praxis ebenfalls kalt geführte obergärige Stellhefe wurden auf Reinheit der Rasse geprüft, d. h. es wurde versucht festzustellen, ob auch diese Hefen, wie bei obergärigen Hefen häufig, aus einem Gemisch einer hoch- und einer niedrigvergärenden Hefe bestehen. Die Eigenschaften der Nachzuchten der aus den einzelnen Hefezellen herangezogenen Stämme wurden, besonders auch auf ihr Auftriebvermögen, geprüft und die Frage der Rassenspaltung — von Hansen bei mehreren Hefen nachgewiesen — für die untersuchten Hefen zu beantworten versucht.

Bezüglich der Rassenmischungen wurde festgestellt, daß 2 der untersuchten Hefen gleichmäßig hochvergärend, die beiden anderen dagegen teils hoch-, teils niedrigvergärend waren.

Die Nachzuchten der Stellhefen verhielten sich, nach Bau mit Melitrioselösung geprüft, wie alle übrigen obergärigen Stellhefen, dagegen gaben nicht alle Nachzuchten beim Gärversuch Auftrieb, letzterer blieb in wenigen Fällen aus und zwar vorzugsweise bei niedrig vergärenden Nachzuchten. Die Verff. kommen dabei ganz allgemein zu dem Schluß, daß bei diesen Laboratoriumsversuchen stets eine kräftige Gärenergie, d. h. hohe zymatische Kraft der Hefen, ebenso wie ein hoher Gehalt an vergärbarem Zucker das Eintreten des Auftriebs begünstigen. Bei denjenigen Versuchen, bei welchen der Auftrieb zunächst ausblieb, konnte er demgemäß durch höhere Hefengabe, Zuckerzusatz usw. hervorgerufen werden. Nur bei den Nachzuchten einer der 4 untersuchten Hefen konnte durch diese Mittel das Eintreten des Auftriebs bis jetzt nicht erreicht werden. Beim Verrühren mit Wasser stellte sich bei den Nachzuchten die für obergärige Hefen charakteristische milchige Verteilung in allen Fällen ein. Auch im Vaselineinschlußpräparat zeigten die Nachzuchten im allgemeinen die Art des Wachstums obergäriger Hefen, diejenigen besonders deutlich, welche Auftriebvermögen besaßen bezw. durch geeignete Maßnahmen zur Hervorbringung des Auftriebs angeregt worden waren.

Die Verff. sind der Ansicht, daß das an untergärige Hefen erinnernde Verhalten einiger Nachzuchten keine Erscheinungen der Rassenspaltung, wohl aber vielleicht die Anfänge einer solchen darstellen. Es konnte festgestellt werden, daß sich die Nachzuchten obergäriger Hefen durch gemeinsame Merkmale charakterisieren lassen, durch welche sie sich von untergärigen Hefen unterscheiden. Es handelte sich — allerdings mit Ausnahme von Hefe No. 4 — hier nur um obergärige, Auftrieb gebende Rassen, welche wiederum Auftrieb gebende Rassen erzeugen. Da die Mutterhefen der Praxis entstammen und dort kalt geführt werden,

so kann gesagt werden, daß die kalte Gärführung allein die obergärigen Hefen noch nicht notwendigerweise derartig verändern muß, daß diese bezw. ihre Nachzuchten ihr Auftriebvermögen verlieren, d. h. untergärig werden. Rommel (Berlin).

Referate.

Molisch, Ueber Ultramikroorganismen. (Bot. Ztg. Jahrg. LXVI. 1908. Abt. I. Heft 7.)

In der kritischen Besprechung der seitherigen Ergebnisse auf dem Gesamtgebiet der Forschung nach ultramikroskopischen Organismen und Darlegung der eigenen Resultate setzt sich Verf. in Gegensatz zu Raehlmann und insbesondere Gaidukow, die den Nachweis erbracht zu haben glauben, daß jenseits der mikroskopischen Wahrnehmung stehende Mikroben etwas sehr Häufiges seien. Verf. hält die Beobachtungen genannter Forscher, ohne die Möglichkeit der Existenz von ultramikroskopischen Mikroorganismen zu bestreiten, für Täuschung, da er selbst (unter Anwendung der gleichen Behelfe wie Gaidukow) solche trotz sorgfältigsten Absuchens des Gesichtsfeldes nicht finden, sondern die in Frage kommenden „Ultramikroben" stets auch mit dem gewöhnlichen Mikroskop (bei 2250-facher Vergr.) beobachten und als Bakterien diagnostizieren konnte. In Uebereinstimmung mit dieser Feststellung stehe die Tatsache, so führt Autor weiter aus, daß alle bekannten Bakterien, welche feste Nährböden bilden, stets mikroskopisch auflösbar sind. Bei häufigem Vorkommen ultramikroskopischer Bakterien wäre zu erwarten, daß wenigstens hie und da Kolonieen in festen Nährböden auftreten, wodurch sie dem freien Auge sichtbar würden. Die noch am ehesten mögliche Annahme, daß für Krankheiten wie Maul- und Klauenseuche, Mosaikkrankheit des Tabaks u. a. ultramikroskopische Organismen als Krankheitserreger in Betracht kämen, werde in Frage gestellt durch die vorliegende Möglichkeit, daß es sich hier nicht um pathogene Lebewesen, sondern eine Stoffwechselkrankheit handle. Zum Schluß der Abhandlung verweist Verf. auf die Uebereinstimmung seiner Befunde mit den theoretisch gewonnenen Schlußfolgerungen Erreras, denen zufolge eventuell existierende Ultramikroben nicht viel kleiner sein können als die bisher bekannten Lebewesen.

Schaffnit (Bromberg).

Löwschin, A., Zur Frage über den Einfluß des Lichtes auf die Atmung der niederen Pilze. (Beihefte z. Botan. Centralbl. Bd. XXIII. 1908. Abt. 1. Heft 1. p. 54—64. Mit 1 Taf.)

Nach einem Ueberblicke über die Arbeiten von Kolkwitz und Maximow drängt sich dem Verf. die Frage auf, ob auch bei den Versuchsanordnungen der zitierten Forscher Temperaturschwankungen der Kultur selbst unmöglich wurden, ob ihre Temperatur wirklich stets konstant blieb und keine nennenswerte Steigerung im Lichte aufwies. Auf diese Fragen geben die genannten Männer keine befriedigende Antwort, da sie nur die Temperatur des Mediums maßen. Es muß aber die Pilztemperatur nicht mit der des umgebenden Mediums zusammenfallen. Verf. fand da Differenzen, die im diffusen Tageslichte bis zu 0,7° C stiegen. Verf. gibt seine Versuche mit Cladosporium herbarum Link, Aspergillus niger, Oidium lactis und Penicillium sp.

an. Die vorgenommenen 32 Versuche zeigten, daß eine regelmäßige Beschleunigung der Atmung im Lichte stets im Zusammenhange mit der aktinischen Erwärmung der Kultur stand. Matouschek (Wien).

Pringsheim, Hans, Ueber Pilzdesamidase. (Biochemische Zeitschrift. Bd. XII. 1908. p. 15.)

In einer Reihe von Versuchen wurde gezeigt, daß Acetondauerhefe und Preßsaft einer Kultur von Allescheria Gayonii nicht die Fähigkeit haben, α-Aminosäuren und andere Amine zu desamidieren. Da nun Erffront vor kurzem gezeigt hatte, daß lebende Hefe dazu imstande ist, wurde folgender Schluß gezogen: Verschiedenen Pilzen, wie der Hefe und Aspergillus niger, kommt die Fähigkeit zu, aus stickstoffhaltigen Substanzen, vor allem auch aus Aminosäuren, in denen die Aminogruppe fest gebunden ist, Ammoniak abzuspalten. Diese Abspaltung ist enzymatischer Natur. Das desamidierende Enzym behält seine Wirksamkeit jedoch beim Behandeln der Pilze mit Aceton und Aether, d. h. bei der Darstellung der Acetondauerpräparate, nur in ganz geringem Maße bei. Auch Pilzpreßsäfte haben keine Kraft mehr, um Aminosäuren zu desamidieren. Die weitere Umwandlung des desamidierten Restes in Alkohole durch Kohlensäureabspaltung wird bei der Hefe durch ein Enzym bewirkt, dessen Wirkung an die durch die Gegenwart von Zucker gebundene Entfaltung der Zuckervergärung gebunden ist und das seine Kraft durch die Abtötung mittels Acetons und Aethers oder die Preßsaftdarstellung ganz verliert.

Weiterhin wird die Frage erwogen, ob beim Eiweißaufbau unbedingt zuerst Desamidierung stattfinden muß, ehe die Polypeptidketten aufgebaut werden. Obzwar das aus der Beobachtung der Desamidierung zu folgen scheint und auch an sich plausibel wäre, sprechen doch manche Gründe gegen diese Auffassung. Hierzu gehört: a) die Leichtigkeit, mit der eine große Zahl von Pilzen gerade mit Aminosäuren als Stickstoffquelle wachsen, die sie der Ammoniakernährung vorziehen; b) die Tatsache, daß die Pilzernte bei der Ernährung mit Aminosäuren die bei Ammoniakernährung übertrifft; c) die Unfähigkeit einer großen Zahl von Pilzen und Bakterien, mit Ammoniak als Stickstoffquelle überhaupt zu wachsen, welche im Gegensatz dazu mit Pepton und Aminostickstoff gerade besonders gut gedeihen; d) die Beobachtung des Autors, daß Hefe erst nach einer Gewöhnung imstande ist, den Ammoniakstickstoff zu verarbeiten, während sie mit Aminosäuren glatt gedeiht; e) die Beobachtung des Verf. über den Einfluß der Konstitution der Stickstoffnahrung auf die Gärfähigkeit der Hefe[1]) und anderer Pilze[2]), die zeigten, daß die Zuckergärung an das Vorhandensein der Aminosäurerestgruppe im Molekül der Stickstoffnahrung gebunden ist. Ginge bei allen Stickstoffquellen, die diese Pilze verwenden, ein Abbau zum Ammoniak der Stickstoffaufnahme voran, dann wäre nicht einzusehen, warum die Gärung nicht ganz unabhängig von der Konstitution der Stickstoffnahrung einsetzen sollte, da dann die Ernährung ja in allen Fällen eine analoge wäre. Der Autor hält die Einverleibung der Aminosäurerestgruppe in den Komplex des neuen Eiweiß deshalb für möglich, wenn auch noch für unbewiesen.

---

1) Dieses Centralblatt. Abt. II. Bd. XVIII. 1907. p. 149.
2) Ibid. Bd. XXI. 1908. p. 154.

Zum Schluß wendet sich der Autor gegen Prof. Ide[1]), der seiner Klärung der Bios Hypothese entgegentrat und seine Versuche, die Hefe an die Verarbeitung des Ammoniakstickstoffs zu gewöhnen, vergeblich nachgeprüft haben will. Verf. hatte angegeben[2]), daß man zum Zwecke der Angewöhnung die Hefe in so großer Menge auf ammoniakhaltiger mineralischer Nährlösung aussäen muß, daß sie zu kräftiger Entwickelung und Gärung kommt. Ide übertrug dagegen in seinen Versuchen geringe Hefeaussaaten von einer mineralischen Nährlösung in eine andere gleiche, wobei naturgemäß kein Erfolg zu erwarten ist, da die Lebensbedingungen der Hefe dadurch ja nicht geändert werden. In neueren Versuchen gelang es dem Verf. Hefe, die durch zu geringe Aussaat auf mineralische Nährlösung am Wachstum gehindert war, nach mehreren Wochen aus dem latenten Zustand durch geringe Peptonmenge in den lebenden und gärenden zu versetzen. Daß hierbei keine so schnelle Assimilation wie bei der Zugabe von Hefeabkochung eintrat, erklärt er dadurch, daß die Hefe an die Bestandteile der ihr gewohnten Nahrung besser angepaßt ist, und daß sie in ihr auch organisch gebundenen Phosphor und Schwefel vorfindet. Autoreferat.

Buchner, E. und **Klatte, F.**, Ueber das Ko-Enzym des Hefepreßsaftes. (Biochem. Zeitschr. Bd. VIII. 1908. p. 520.)

Preßsaft, der seine Gärwirkung auf Zucker ausgeübt hat und gärungsunwirksam geworden ist, läßt sich durch Zusatz von gekochtem Preßsaft reaktivieren. Durch wiederholten Zusatz von Kochsaft läßt sich die Gärwirkung allmählich bis auf das Dreifache der gewöhnlichen bringen. Es bestätigt sich also die Annahme von Harden und Young, daß das Gärungsagens des Preßsaftes aus zwei an sich unwirksamen Stoffen, der Zymase und einem Ko-Enzym besteht. Die Zymase muß widerstandsfähiger oder in größerer Menge vorhanden sein als das Ko-Enzym, da dieses vor ihr verschwindet. Preßsaft, der ohne Zuckerzusatz unwirksam geworden ist, läßt sich durch Kochsaft nicht reaktivieren. Man kann auch in ihm kein Ko-Enzym nach Erhitzen nachweisen. Das Ko-Enzym scheint im Preßsaft durch fermentative Einflüsse zugrunde zu gehen. Doch ist hierbei nicht die Endotryptase beteiligt, sondern wahrscheinlich ein fettspaltendes Ferment, wenigstens wird Kochsaft durch Trypsin kaum, durch Ricinuslipase dagegen sehr stark geschädigt. Hierdurch gewinnt die Annahme an Wahrscheinlickeit, daß das Ko-Enzym vielleicht aus einem organischen Phosphorsäureester besteht, der durch die Lipase unter Abspaltung von Phosphorsäure verseift wird. Bei der Darstellung des Preßsaftes scheint das leicht dialysable Ko-Enzym in den Saft überzugehen, während der Rückstand noch reich an Zymase ist. Glyzerinphosphorsaures Natron erhöhte die Gärkraft des Preßsaftes bis über das Doppelte, war also ungefähr ebenso wirksam wie Lecithin und sekundäres Natriumphosphat. Dagegen konnte bei der Vergärung unwirksam gewordener Preßsaft dadurch nicht reaktiviert werden. Monokaliumphosphat beschleunigt nur in einer Konzentration von 5 Proz. die Gärung und wirkt weit ungünstiger als sec. Kaliumphosphat. Kurt Meyer (Berlin).

Palladin, W., Beteiligung der Reduktase im Prozesse der Alkoholgärung. (Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. LVI. 1908. p. 81.)

Acetondauerhefe enthält eine Reduktase, die selenigsaures Natrium unter Rotfärbung zu Selen reduziert und Methylenblau entfärbt. Sie

1) Ibid. Bd. XVIII. 1907. p. 193.
2) Ibid. Bd. XVI. 1906. p. 111.

ist bei der Alkoholgärung beteiligt, da Zusatz von Glukose und in geringerem Maße auch anderer vergärbarer Zucker wie Saccharose und Galaktose ihr Reduktionsvermögen gegenüber seleniger Säure und Methylenblau aufhebt, während nicht vergärbare Stoffe, wie Glyzerin, Laktose und Mannit, hierzu nicht imstande sind. Die Hemmungswirkung der vergärbaren Zucker ist so zu erklären, daß die Nährsubstanz von größerem Werte, die Glukose zuerst gespalten wird, während die geringwertigen Stoffe, selenige Säure und Methylenblau, unberührt bleiben.

Kurt Meyer (Berlin).

Stoklasa, unter Mitwirkung von **Ernest** und **Chocensky,** Ueber die Atmungsenzyme im Pflanzenorganismus. (Zeitschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterr. Bd. X. 1907. p. 817.)

Stoklasa gibt einleitend eine Darstellung der von ihm und seinen Mitarbeitern bei den Studien über die anaërobe Atmung der Samenpflanzen befolgten Methodik und die gewonnenen Resultate. Diese lassen sich in dem Satze zusammenfassen, daß der Prozeß der anaëroben Atmung der Pflanzenzelle eine unter Milchsäurebildung vor sich gehende alkoholische Gärung ist, deren Mechanismus in der Pflanzenzelle von der Art der in ihr vertretenen Kohlehydrate abhängt.

Versuche mit gefrorenen (24 Stunden in einer Kältemischung bei — 18 bis — 25° C aufbewahrten) Zuckerrüben und Kartoffeln ergaben, daß der Atmungsprozeß bei den erfrorenen Pflanzenteilen eine Abkürzung, aber keine Abschwächung erfuhr. Wie bei frischen, so ergab sich auch bei den gefrorenen Rübenblättern ein bestimmtes, und zwar sehr annähernd das gleiche konstante Verhältnis zwischen der Intensität der aëroben und anaëroben Atmung. In Uebereinstimmueg mit Palladin und Kostytschew stellten die Verff. fest, daß die in den Pflanzen befindlichen Enzyme (Zymase und Laktazidase) durch das Gefrieren nicht zerstört werden. Sie bestehen aber nur ganz kurze Zeit in ungeschwächter Aktivität weiter und können daher aus gefrorenen Pflanzenteilen nicht mehr isoliert werden.

Die Resultate der gesamten Beobachtungen lehren, „daß die anaërobe Atmung der erfrorenen Organe der Samenpflanzen, und zwar des Blattwerkes, sowie der Wurzel der Zuckerrübe und der Knollen der Kartoffel eine alkoholische Gärung ist“.

Versuche mit getrockneten Pflanzenteilen, bei welchen Enzymwirkungen nicht mehr in Betracht kamen, wiesen darauf hin, daß ein gewisser Anteil der im ganzen ausgeschiedenen Kohlensäure auf chemischem Wege entstanden ist.

Im Anschluß an diese Feststellungen bemerken Verff., daß ihre Versuche für das Vorhandensein der Peroxydase auch bei der Stein- und Braunkohle sprechen. „Durch vergleichende Atmungsversuche mit sterilisierter und nicht sterilisierter Stein- und Braunkohle, weiter durch Anwendung der Methode von W. Palladin und seiner Schüler ist es uns gelungen, den Nachweis zu liefern, daß die Abscheidung des Kohlendioxyds:

1) durch Autoxydation und

2) durch enzymatische Wirkung erfolgt.

Die Abscheidung des Methans und des Wasserstoffs wird bloß durch die Peroxydase hervorgerufen.“

Die aus den Pflanzenteilen isolierten Rohenzyme waren befähigt, in Glukoselösung alkoholische und Milchsäuregärung hervorzurufen. „Die im Protoplasma sich abspielenden primären Prozesse werden hervorgerufen:

1) durch die Enzyme, welche die Milchsäurebildung bewirken, wahrscheinlich durch die Zymase und

2) durch die Enzyme, welche die Alkohol- und Kohlendioxydbildung verursachen, wahrscheinlich durch die Laktazidase. Die von uns aus den Pflanzenorganen isolierten Enzyme sind also in vieler Hinsicht der Zymase und der Laktazidase ähnlich.“ Vogel (Bromberg).

Bokorny, Th., Einiges über die Atmung der Hefe unter verschiedenen Bedingungen. (Allg. Brauer- und Hopfenztg. 1908. 29. Aug.)

Bei der Hefe gibt es Sauerstoffatmung und intramolekulare Atmung (Gärung).

Werfen wir zunächst einen Blick auf die intramolekulare Atmung der Hefe, d. i. die Gärung. Wie groß ist hier die zersetzte Zuckermenge? In der Bierbrauerei rechnet man auf 1 hl Würze etwa 0,5 Liter Hefe. Die Würze enthält rund 7 Proz. Maltose (bei gewöhnlichen Bieren); das macht, wenn wir den Hektoliter Würze zu 100 kg rechnen, was ja nicht ganz genügt, auf 1 hl 7 kg Zucker. Die Hefe enthält so, wie sie in den Bierbrauereien als „Stellhefe“ gebraucht wird, etwa die Hälfte ihres Gewichtes Preßhefe von 70 Proz. Wassergehalt; ein halber Liter Stellhefe enthält also etwa 75 g Trockensubstanz. Binnen 14 Tagen ist die Gärung ziemlich beendet; sie wird im Keller bei 6—10° C durchgeführt. Hierbei geht die Gärung viel langsamer vor sich, als bei gewöhnlicher Temperatur. Immerhin werden hier durch eine Hefenmenge von 75 g Trockensubstanz binnen 14 Tagen bei jener Temperatur 7 kg Zucker vergoren, also durch 1 g Hefentrockensubstanz 93,3 g Zucker. Bei 40° C ist nach Naegeli 1 g Unterhefe, mit etwa $^1/_6$ g Trockensubstanz, imstande, 70 g Zucker (als 10-proz. Lösung angewandt) binnen 24 Stunden zu vergären, also 1 g Hefentrockensubstanz 420 g Zucker binnen 24 Stunden. Hier wie dort bleibt aber die Hefenmenge nicht konstant, sondern steigt schließlich bis aufs Doppelte, ja sogar Dreifache, so daß als durchschnittliche Hefenmenge, während der ganzen Versuchsdauer wirkend, mehr gerechnet werden muß, etwa 2 g statt 1 g. Nimmt man die Zuckerlösungen wesentlich konzentrierter, so wird der Zucker nicht mehr ganz vergoren, weil dann eine solche Alkoholmenge entsteht, daß die Gärung aufgehoben wird. Bei 10—12 Proz. Alkoholgehalt in der gärenden Flüssigkeit hört das Gärungsferment auf, wirksam zu sein.

Viel empfindlicher gegen Alkohol ist die Mucorhefe; auch braucht sie viel länger, um die Gärung zu bewirken. Nach Pasteur bringt Mucor mucedo binnen 14 Monaten in Bierwürze eine Gärung bis zu 1,8 Proz. Alkohol hervor. Nach Hansen entstehen bei 23° C binnen 15 Tagen in Bierwürze 0,5 Volumprozent Alkohol, wenn Mucor mucedo die Gärung hervorruft; bei Zimmertemperatur binnen 6 Monaten 3 Volumprozent. Mucor racemosus bringt nach Fitz binnen „vielen Monaten“ in Most bei 25—28° C 3,5—4 Gewichtsprozent Alkohol hervor. Nach Pasteur entstehen binnen 2 Jahren bei Zimmertemperatur in Bierwürze 3,3 Proz. Alkohol bei Einwirkung von Mucor racemosus. Nach Hansen brachte es Mucor racemosus in Würze binnen 12 Monaten bei Zimmertemperatur auf 7 Volumprozent Alkohol. Mucor spinosus stellt nach U. Gayon die Bildung von Alkohol ein, sobald 1,5—2 Proz. davon entstanden sind.

Dagegen gibt Hansen an, daß er mit demselben Pilz in Würze

bei 22 °C binnen $6^1/_2$ Monaten 5,4 Volumprozent Alkohol erzielen konnte. Mucor erectus lieferte bei Zimmertemperatur in Würze binnen $2^1/_2$ Monaten 8 Volumprozent Alkohol, bei 25 °C hingegen 7 Volumprozent.

Bei der normalen oder Sauerstoff-Atmung der Hefe werden viel geringere Mengen von Stoff verbraucht.

Nach den Versuchen des Verf. veratmet die Hefe auf 100 g Hefentrockensubstanz binnen 2 Tagen 3,3 g Substanz, also auf 1 g Hefentrockensubstanz binnen 2 Tagen bei 35 °C 0,033 g.

Bei der Gärung oder intramolekularen Atmung der Hefe wird also eine unverhältnismäßig große Menge Stoff veratmet, dieselbe ist als eine eminente Energiequelle zu betrachten, die freilich bald versiegt, indem der entstehende Alkohol die weitere Gärung hemmt oder verhindert und zu einer Schwächung der Hefe führt, durch welche sie leicht von anderen Mikroorganismen überwunden wird.

Die alkoholische Gärung bei grünen Pflanzen ist geringfügig und hat nur sehr untergeordnete Bedeutung. Autoreferat.

Butkewitsch, Wl., Zur Frage über die Umwandlung der Stärke in den Pflanzen und über den Nachweis der amylolytischen Enzyme. (Biochem. Zeitschr. Bd. X. 1908.)

Zu den Versuchen dienten Holzzweige, welche Ende Februar oder Anfang März, vor Beginn der im Frühling stattfindenden Stärkeablagerung, abgeschnitten waren. Die abgeschnittenen Zweige (Morus alba und Sophora japonica) wurden ins Wasser gestellt und einige Tage bei Zimmertemperatur gehalten, bis die mikroskopische Untersuchung eine Ablagerung von genügenden Mengen Stärke in ihrer Rinde zeigte. Die Zweige wurden dann der Länge nach in 2—4 Teile gespalten und in Chloroformwasser bezw. Toluolwasser unter eine Glasglocke gestellt. Nach ca. 3 Tagen verschwand die in der Rinde aufgespeicherte Stärke.

Diese Auflösung der Stärke kann nicht durch eine Erhöhung der Atmungsintensität erklärt werden, da sie von einer Zuckeranhäufung begleitet wird. Auch durch eine Temperatur von 60—70 ° kann eine solche Verzuckerung der Stärke erzielt werden.

Sowohl getrocknete und zerriebene Rinde als auch wässerige Auszüge aus derselben rufen bei 50 ° eine rasche Verflüssigung des Stärkekleisters hervor, wobei nach einiger Zeit die Stärkereaktion verschwindet und die Flüssigkeit die Fähigkeit, Fehlings Lösung zu reduzieren, gewinnt.

Durch Fällen mit Alkohol wurde aus einem wässerigen Rindenauszug ein sehr aktives Präparat des diastatischen Enzyms erhalten.

Die Rinde selbst und der wässerige Auszug aus derselben hatten die Fähigkeit, Maltose zu invertieren. Das mit Alkohol gefällte Präparat besaß diese Fähigkeit nicht. Die Beobachtung der Auflösung der in den Pflanzengeweben enthaltenen Stärke bei 50—60 ° gibt uns eine bequeme Methode zum Auffinden des diastatischen Enzyms. Bei der Anwendung dieser Methode wurde eine vollständige Auflösung der darin enthaltenen Stärke innerhalb einiger Stunden konstatiert.

Auch im Holz ergab diese Methode die Anwesenheit eines verzuckernden Enzyms.

Die Rinde einiger Papilionaceen (Sophora japon., Robinia Pseudoacacia, Caragara arbor) steht dem Malz nur wenig nach in bezug auf diastatische Kraft; sie könnte nach Ansicht des Verf. sogar zu technischer Stärkeverzuckerung Anwendung finden.

In der an Diastase reichen, während der Frühlingsperiode gewonnenen entstärkten Rinde kann beim Einlegen in eine Zuckerlösung von neuem eine reichliche Stärkespeicherung erzielt werden.

In der Rinde von Populus nigra ist ebenfalls ein stärkelösendes Enzym vorhanden, welches aber seine Tätigkeit nur bei Anwendung frischer Rinde ausübt. Das negative Resultat mit der getrockneten Rinde ist wahrscheinlich dadurch bedingt, daß das Enzym beim Trocknen seine Aktivität unter dem Einfluß der Gerbstoffe verliert, welche in der Rinde der Populus-Arten reichlich enthalten sind.

Th. Bokorny (München).

Klempin, P., Studien über das amylolytische Ferment im Hafer. (Biochem. Zeitschr. Bd. X. 1908.)

Bei den Studien über proteolytische Fermente in einigen pflanzlichen Nahrungsmitteln war aus Hafer ein Glyzerinextrakt hergestellt worden, der sich nicht nur proteolytisch, sondern auch amylolytisch als sehr wirksam erwies.

Geschroteter Hafer wurde $2^1/_2$ Stunden in einer elektrisch betriebenen Kugelmühle mit einem Gemisch gleicher Teile Wasser und Glyzerin möglichst intensiv zermahlen, der feste Rückstand alsdann in einer Filterpresse abgepreßt und das ablaufende trübe Filtrat in hohen Zylindern durch Sedimentieren geklärt. Die nach einigen Tagen abgeheberte braungelbe Flüssigkeit wurde durch Wattebauschen noch mehrmals filtriert. Der so dargestellte Glyzerinextrakt erwies sich auch nach wochenlanger Aufbewahrung im Eisschrank amylolytisch wirksam gegen Stärkelösung.

Es ergab sich, daß folgende Mengen Extrakt nötig sind, um 1 ccm einer 1-proz. Stärkelösung zu verdauen:

Zeit	Menge des Extraktes
$^1/_2$ Stde.	7,3 cm
1 „	5,3 „
2 „	3,6 „
4 „	2,6 „
8 „	1,8 „

Ferner ergab sich, daß das Ferment zwischen 40 und 70° C am wirksamsten ist. Hohen Temperaturen gegenüber ist das Ferment sehr resistent; erst bei einer Temperatur von 90—95° wird es vollkommen wirkungslos.

Verdauungsversuche mit Stärke ergaben, daß das Ferment der Schütz-Borissowschen Regel folgt: $f \cdot \sqrt{t} =$ Konst., wobei 0,9 ccm Fermentlösung die Einheit der Fermentlösung und f die Anzahl dieser Einheiten, $^1/_2$ Stunde die Einheit der Zeit und t die Anzahl dieser Einheiten bezeichnet.

Th. Bokorny (München).

Michaelis, Leonor und **Ehrenreich, M.**, Die Adsorptionsanalyse der Fermente. (Biochem. Zeitschr. Bd. X. 1908.)

Es wurde das Verhalten der Fermente gegen folgende Adsorbentien geprüft: Kaolin, Talkum, Tierkohle, Tonerde, Eisenhydroxyd.

Pflanzliche (Malz-) Diastase wird von Kohle in alkalischer Lösung von einem genau bestimmbaren Grade gar nicht, in neutraler und saurer Lösung jedoch quantitativ adsorbiert. Von Tonerde wird sie bei neutraler und alkalischer Reaktion vollkommen, bei saurer Reaktion unter sonst gleichen Bedingungen unvollkommen adsorbiert. Von Kaolin wird sie in neutraler und alkalischer Lösung nicht adsorbiert, wohl aber bei saurer

Speichel-Diastase wird von Talkum vollkommen absorbiert bei jeder Reaktion, von Tonerde ebenfalls, von Kohle desgleichen, ebenso von Kaolin.

Die Malzdiastase wird demnach von Michaelis und Ehrenreich als ein amphoterer Körper bezeichnet, und zwar mit stärker saurer als basischer Eigenschaft.

Da die Speicheldiastase unter allen Umstände von Kaolin und Tonerde adsorbiert wird, ist sie ein amphoterer Körper.

„Invertin wird bei allen Reaktionen von Tonerde absorbiert, bei keiner Reaktion von Kaolin, hat also den Charakter einer Säure."

„Pepsin wird nicht von Kaolin, wohl aber von Tonerde absorbiert, hat also ebenfalls den Charakter einer Säure."

„Diese Methode der „Adsorptionsanalyse" ist ein Gegenstück zu der seinerzeits von P. Ehrlich inaugurierten Farbanalyse. Handelt es sich dort darum, aus den absorbierenden Eigenschaften eines festen Körpers (gegenüber Farbstoffen) einen Schluß auf seine Natur zu ziehen, so handelt es sich hier darum, die Eigenschaften der Absorbierbarkeit von gelösten Körpern zur Erforschung ihrer Natur zu benutzen."

Verf. unterscheidet eine mechanische und elektrochemische Adsorption. Ausführliches darüber soll in dem demnächst erscheinenden Artikel „Kolloide" von L. Michaelis in dem Handbuch „Physikalische Chemie und Medizin" von Korányi und Richter nachgesehen werden.

Th. Bokorny (München).

Neumann und **Salecker,** Ueber den Einfluß diastasereicher Malzpräparate auf die Backresultate. (Landwirtschaftliche Jahrbücher. 1908. Heft 5.)

Verff. haben bei ihren Untersuchungen über die Bedeutung der fermentativen Autolyse für die Teiggärung als Spezialfall den Einfluß diastasereicher Malzpräparate auf das Backergebnis geprüft, zumal von mancher Seite die Verwendung solcher Malzerzeugnisse sehr warm befürwortet wird. Es kamen davon

Weizenmalz,
Gerstenmalz A und B, sowie
Malzextrakt

zur Verwendung, sowie eine ganze Reihe verschiedener Mehlsorten in Verbindung mit ihnen. Als Ergebnisse sind anzuführen:

Die durch geeignet geführte Ankeimung von Weizen und Gerste gewonnenen Malzmehle und deren Auszüge zeigen einen deutlichen Einfluß auf die Teiggärung und die Ergebnisse des Backvorganges, indem sie das Volum der Gebäcks vergrößern, ohne die Güte der Backware zu beeinflussen. Dieser Einfluß der Malzerzeugnisse ist in erster Linie auf ihren Gehalt an diastatischen Enzymen zurückzuführen, die durch Verzuckerung der Stärke der Hefe einen geeigneten Nährboden darbieten.

Eine Volumzunahme der Gebäcke ist auch durch Zusatz von Zucker zu erzielen, doch bleibt diese Zunahme gegenüber der durch Malzpräparate erhaltenen zurück. Man muß daher annehmen, daß neben den amylolytischen auch die proteolytischen Enzyme eine Rolle spielen, die zu besserer Lockerung der Backware führt.

Den enzymreichen Malzpräparaten gegenüber verhalten sich die verschiedenen Mehle verschieden. Der wechselnde Gehalt an den durch die gebräuchlichen Untersuchungsverfahren zu ermittelnden Bestandteilen des Mehles hat keinen Einfluß auf das unterschiedliche Verhalten der

Mehlsorten. Es könnte allerdings scheinen, daß besonders die Mehle mit höherem Klebergehalt zur Volumvermehrung des Gebäckes geeigneter sind, wenn durch die Malzpräparate für eine günstig verlaufende Gärung gesorgt ist. — Ohne Zusatz der Malzerzeugnisse hat die Klebermenge für die Gebäckgröße keine Bedeutung.

Eine Hefenersparnis läßt sich durch Verwendung der Malzpräparate nicht herbeiführen, wenigstens nicht, wenn das Weizenkleingebäck, wie jetzt häufig üblich, ohne Bereitung von Hefestück oder Vorteig hergestellt wird. Ehrenberg (Breslau).

Stoklasa, Alkoholische Gärung in den Pflanzen- und Tierzellen. (Chemiker-Zeitung. 1907. p. 1228.)

Verf. zieht aus zahlreichen mit verschiedenen Mitarbeitern ausgeführten Untersuchungen über die vom lebenden Protoplasma ausgeschiedenen gärungserregenden Enzyme den Schluß, „daß der Prozeß der anaëroben Atmung der Pflanzenzelle eine unter Mischsäurebildung vor sich gehende alkoholische Gärung ist, deren Mechanismus in der Pflanzenzelle von der Art der in ihr vertretenen Kohlehydrate abhängig ist".

Gegenüber denjenigen Autoren, welche die Vermutung ausgesprochen haben, daß die von Stoklasa den Atmungsenzymen zugeschriebenen Wirkungen eventuell durch Bakterien hervorgebracht sein könnten, welche in den Versuchsflüssigkeiten auftraten, bemerkt Verf., daß einzelne seiner Enzyme sofortige Gärungserscheinungen beim Eintragen in Zuckerlösung hervorrufen, während Bakterien in so kurzer Zeit gar keine oder doch nur ganz geringe Wirkungen auszuüben vermögen, und daß die aus den Pflanzen- und Tierorganen gewonnenen Gärflüssigkeiten mit so großen Mengen von Desinfektionsmitteln versetzt waren, daß auch aus diesem Grunde bei den genau verfolgten Gärungsprozessen jede Bakterienwirkung ausgeschlossen erschien. Vogel (Bromberg).

Levene, P. A. und **Mandel, John A.**, Ueber die Darstellung und Analyse einiger Nukleinsäuren. (Biochem. Zeitschr. Bd. X. 1908.)

Die Zusammensetzung der Nukleinsäuren ist noch bei weitem nicht aufgeklärt, weil es noch kein genaues Verfahren zur quantitativen Gewinnung der Nukleinsäurekomponenten gibt; besonders fehlte es an den Purinbasen.

Die Verff. haben nun die Spaltung der Nukleinsäure durch Essigsäure unter Anwesenheit von Bleizucker ausgeführt. Die Ausbeute der Basen hängt von der Dauer der Erhitzung und von der Konzentration der Essigsäure ab. Am günstigsten erwiesen sich die folgenden Bedingungen: In 1,0 g Nukleinsäure wird mit 10 ccm einer 25-proz. Lösung von Bleizucker und derselben Menge einer 25-proz. Essigsäure etwa 4 Stunden im Autoklave auf 150° erhitzt. Das Blei wird durch Schwefelsäure, die Essigsäure durch Destillation bei vermindertem Druck entfernt und die Purinbasen mittels Silbersulfat gefällt. Die weitere Behandlung wird auf die übliche Weise ausgeführt.

Das neue Verfahren erlaubt gerade das Guanin, das bisher am meisten Schwierigkeiten machte, analysenrein nach zweimaligem Umkristallisieren zu erhalten. Der Stickstoffgehalt dieses Präparates betrug 43,2 Proz., während sich aus der Formel $C_5H_5N_5O$ N = 46,53 Proz. berechnet.

Was die Ausbeute an der Base betrifft

in Betracht ziehen, nämlich die absolute Menge und das Verhältnis der zwei Purinbasen zueinander. Schon Kossel hat bei der Analyse der Thymus-Nukleinsäure bei der Spaltung von 10,0 g Substanz 1,2 g Adenin und 0,6 g Guanin erhalten. Andere Forscher, Schmiedeberg, Osborn und Harris, W. Jones haben immer die Anwesenheit von äquimolekularen Quantitäten von Guanin und Adenin im Molekül angenommen. Bei der Spaltung der Nukleinsäure mittels des Essigsäure-Bleiacetatverfahrens war die Ausbeute an den zwei Basen immer in annähernd äquimolekularen Verhältnissen. Nach einer älteren Arbeit von einem der Verf. (Zeitschr. physiol. Chem. Bd. XLV. p. 370) scheint es, daß auch die Pyrimidinbasen in demselben Verhältnisse vorkommen.

Es handelte sich nun darum, auch das Verhältnis zwischen Pyrimidinbasen und Purinbasen festzustellen. Die Zahlen sind folgende:

	Gefunden (Levene u. Mandel)	Berechnet (Steudel)
Adenin	8,17	9,56
Guanin	9,15	10,72
Cytosin	7,00	7,86
Thymin	8,00	8.93

Der Stickstoffgehalt der Nukleinsäure wurde zu 17 Proz. gefunden. „Ein relativer Gehalt von 2 Pyrimidinbasen zu 3 Purinen würde dem Stickstoffgehalt 17 Proz. besser entsprechen als die Annahme von Steudel von dem äquimolekularen Gehalt in der Säure an Nukleinbasen.“ Th. Bokorny (München).

Volk, Richard, Mitteilungen über die biologische Elbe-Untersuchung des naturhistorischen Museums in Hamburg. (Verhandl. des naturwiss. Vereins in Hamburg III. Folge. Bd. XV. 1907. p. 1—54.) Hamburg 1908. Mit 3 Tafeln und 1 Karte.

Die Aufschriften der Kapitel sind folgende: Allgemeines; biologische Methoden; physikalische und chemische Methoden; verschiedene Hilfsmittel; Ergebnisse, und zwar die hydrochemischen, die biologischen, das Plankton; zur Selbstreinigung des Stromes; das Verhalten der Fische; Schlußfolgerungen.

Einige wichtigere Resultate muß man hervorheben:

1) Die Elbe vermag die fäulnisfähigen Stoffe, die ihr bei Hamburg durch die Sielwässer zugeführt werden, selbst unter den überaus ungünstigen Verhältnissen des Jahres 1904 ohne nachweisbare Schädigung ihrer Bewohner aufzunehmen. Ein Teil der organischen Abwasserstoffe wird bis zur völligen Mineralisation und Vergasung zerstört und damit aus dem Wasser geschafft, während zugleich ein anderer Teil wieder zu lebender Substanz werdend, zu einer gewaltigen Vermehrung der Organismen des Planktons und der seßhaften Grundfauna führt, die ihrerseits wieder als Fischnahrung zu hoher wirtschaftlicher Bedeutung gelangt. Eine Schädigung der Fischerei erfolgt sicher nicht. Die Tiden (Gezeiten) bewirken eine verhältnismäßig rasche Verteilung der Abwässer auf die Wassermassen des Stromes.

2) Für das Gebiet ersann Verf. eine neue Planktonmethode. Er konstruierte eine „Planktonpumpe“, die des näheren beschrieben wird. Es ist eine Rotationspumpe mit mechanischer Hebevorrichtung für den an langem Spiralschlauch befestigten Saugkorb. Reiner, durch Schütteln von Quittensamen mit kaltem Wasser frisch bereiteter Quittenschleim zeigte sich als vorzügliches Einbettungsmittel für lebende Kleintiere. Ciliaten und Rotatorien entfalten zwar ihr Wimperspiel, Krebschen bewegen ihre Füße, aber sie kommen nicht von der Stelle.

Die volumetrische Bestimmung des Planktons durch Sedimentierung oder Zentrifugierung, ebenso Gewichts- und chemische Bestimmungen ganzer Fänge sind beim Elbeplankton zu verwerfen. Der „Tenax-Apparat" und die Hofersche Farbentafel befriedigte nicht.

3) Die Elbe ist von der Einmündung der Staßfurter etc. Laugen abwärts der salzhaltigste Strom Europas. — Zurzeit der Kampagne in den Zuckerfabriken steigt der Gehalt an organischen Stoffen. Weil aber diese Steigerung in eine Zeit fällt, in welcher mit dem Sinken der Wasserwärme die Intensität der Lebensvorgänge der Wasserbewohner wesentlich herabgestimmt ist, verläuft sie in dem Arbeitsgebiete ohne nachweisbaren schädigenden Einfluß auf Tier und Pflanze.

4) Der Gehalt eines Gewässers an freiem Sauerstoff ist das Produkt aus dem Zusammenwirken von Luftdruck und Wassertemperatur in Gemeinschaft mit den im Wasser sich abspielenden Lebensvorgängen seiner Bewohner. Es zeigte sich selbst 1904 ein Sauerstoffgehalt auf der Strecke Gauert-Schulau, der mehr als genügend war für das Sauerstoffbedürfnis der sauerstoffhungrigsten Fische. Infolge reicher Produktion von Planktondiatomeen (Asterionella, Melosira, Coscinodiscus) wurde sehr häufig — zuweilen noch sogar innerhalb der Sielwasserregion — Uebersättigung des Wassers mit Sauerstoff wahrgenommen.

5) Zwei Faktoren tragen wesentlich zur Schwefeleisenbildung bei: Der große Reichtum an Chloriden und die großen Mengen von gelöstem Gips und anderen Sulfaten. Diese werden bei Gegenwart organischer Stoffe durch Bakterienarbeit zu Sulfiden bezw. Sulfhydraten reduziert, die ihrerseits dann mit den im Wasser gelösten oder fein verteilten ungelösten Eisenverbindungen durch Wechselzersetzung Schwefeleisen bilden, wie die schwefelhaltigen Zersetzungsprodukte der Eiweißkörper.

6) Bezüglich des Planktons sei nur folgendes erwähnt: Für gewisse Bestandteile des Unterelbe-Planktons (besonders für die Massen von Bosminen) bilden die Hafenbecken die Brutstätte, während die Copepoden (Eurytemora), welche den Strom von Hamburg bis zur Mündung zeitweise in riesigen Schwärmen bevölkern, von den muldenartigen Vertiefungen der flacheren Stellen des Strombettes ihren Ausgang nehmen. Bezüglich der Phytoplanktonten: Die Elbe bringt aus dem Binnenlande viele Arten ihres vielgestaltigen Stromgebietes herab, es rücken aber Formen aus dem Mündungsgebiete (Coscinodiscus-Arten und Tiere) bis nach Hamburg hinauf, die mit besonderem Anpassungsvermögen an das Süßwasser begabt sind. Im Süßwasser allein fand der Verf. 424 Metazoen, 330 Protozoen, 827 Protophyten. Während das ganze Jahr der Bestand an Cladoceren oberhalb der Stadt im „Reinwasser" einige tausend im Raummeter nicht übersteigt, wurden diese Krebschen im Sielwasserbereich nach ebensovielen Millionen gezählt. Für die Rotatorien konnte dies nicht bestätigt werden. Die Bosminen sind in den Hafenbecken sonderbarerweise horizontal und vertikal gleichmäßig verteilt; die Eurytemoren neigen dagegen ausgesprochen zur Schwarmbildung. Die Planktonkruster und -Algen haben im allgemeinen zwei Maxima (Frühjahr, Herbst). Doch kommen hochgradige Massenproduktionen (sogenannte „Wasserblüten", die der Elbe einen bestimmten Farbton verleihen) normal oder außergewöhnlich vor.

7) Bei der biologischen Verarbeitung der organischen Ab-

Leptomitus) keine Rolle; der Löwenanteil kommt da den freilebenden Bakterien, den Planktonalgen, Protozoen und den detritusfressenden Metazoen (Tubificiden und Mollusken, Insekten und deren Larven) zu.

Matouschek (Wien).

Trillat, A. et **Santon**, L'amertume du lait et des fromages. (Ann. de l'Inst. Past. T. XXII. 1908. No. 3. p. 244.)

Weder die milchzuckervergärenden Hefearten (Saccharomyces lactis, Lactomyces, Torula amara), noch die ammoniakproduzierenden Keime (Tyrothrix filiformis, Tyrothrix tenuis, Micrococcus ureae) können für sich allein das Bitterwerden der Milch hervorrufen, wohl aber, wenn sie gleichzeitig wirken. Jede Milch, die gleichzeitig Aldehyde, als Produkt der Milchzuckergärung, und Ammoniak enthält, wird bitter.

Fürst (München).

Weigmann, H., Ueber die Entstehung des Steckrübengeschmacks der Butter. Untersuchungen und Versuche ausgeführt unter Mitwirkung von **O. Makowka**, **R. Eichloff**, **Th. Gruber**, **H. Huss** und **Lindemann**. (Landw. Jahrbücher. 1908. p. 261—309.)

Verf. veröffentlicht in vorliegender Arbeit während mehrerer Jahre verfolgte, durchaus wichtige Beobachtungen bezüglich eines nicht selten auftretenden Butterfehlers — des sogenannten Rübengeschmacks der Butter.

Zum ersten Male wurde der Fehler in der Versuchsmeierei an Butter beobachtet, die in 10-proz. Salzlake konserviert war; als Erreger derselben konnte eine Bakterie festgestellt werden, die in Butter sowohl wie auch in der Lake vertreten war und nach Einimpfen in zur Verbutterung dienenden Rahm wiederum Butter mit „Rübengeschmack" erzeugte.

Diesem Befunde zufolge kam also zu der bisher allgemein gegebenen Annahme, daß der an Steckrüben erinnernde Geruch und Geschmack von einem Stoffe herrühre, der in der Rübe enthalten sei und in die Milch übergehe, noch eine zweite Erklärung jener Erscheinung hinzu, die nämlich, daß es sich bei der Entstehung des Fehlers um einen rein bakteriologischen Vorgang handeln müsse, wie denn auch in Genossenschaftsmeiereien die Erfahrung gemacht wurde, daß im Falle einer starken Rübenfütterung durch Pasteurisieren des Rahms vor dem Ansäuern das auftretende Uebel beseitigt resp. bekämpft werden konnte, obgleich aber auch andererseits durch die Durchlüftung des Rahms beim nachträglichen Passieren des Kühlers eine Verflüchtigung des Rübenduftes statthaben konnte.

Zunächst sollte die erste Frage, ob also ein Geschmacksstoff der Rübe auf die Butter sich übertrage, beleuchtet werden. Zu diesem Zwecke wurden Fütterungsversuche mit hohen Rübengaben angestellt, wobei für das Mehr an Rüben namentlich Rauhfutter von der üblichen Futterration fortgelassen wurde, in der Annahme, daß der Rübengeschmack der Milch am besten in Erscheinung treten müßte, wenn den Kühen weniger Rauhfutter gereicht würde. Eine Reihe unter besonderen Kautelen ausgeführter Versuche, in denen bei starker Rübenfütterung in der Hauptsache einmal aus der besonders sauber gewonnenen, frisch entrahmten und nach Ansäuern mit Milchsäure sofort verbutterten Milch

Beinamen Carotae (Pseudomonas Carotae) erhielt; sie wurde in Quark gefunden.

Von ihrer eingehenden Beschreibung sei hier nur das Wichtigste hervorgehoben:

Eine ihrer hauptsächlichsten biologischen Eigenschaften war, daß sie bei einer recht niedrigen Temperatur, nämlich bei 6—10° C., ganz außerordentlich gut gedieh, weshalb sie auch bei Aufbewahrung in kühler Winterluft im Quark den anderen Bakterien gegenüber zum Durchbruch kam.

Die Größe beträgt, auf Agar bei 6—10° C gezüchtet, 0,4 $\times$ 1,75 μ und ist ziemlich ebenmäßig. Diplostäbchen sind sehr häufig, auf Gelatine 0,85 $\times$ 2,6 μ groß. Die Bakterien sind beweglich und besitzen 1—3 polare Geißeln, deren Nachweis nach der Methode von van Ermengem sehr gut gelang.

Tupfkulturen auf Gelatineplatten bei 17° C und 6—10° C zeigten nach dem 2. Tage 3—5 mm große, perlmutterglänzende, gelappte, coliartige, am Rande dünne und durchsichtig flache Kolonieen mit hellgrüner Fluoreszenz des Nährbodens und kräftigem Geruch nach Mohrrüben; die Gelatine wird nicht peptonisiert.

In Magermilch zeigt sich selbst nach 4 Wochen äußerlich keine Veränderung. Nach 10 Tagen riecht die Milchkultur, bei 6—10° C gehalten, kräftig nach Karotten, die Reaktion ist stark alkalisch; bei höheren Aufbewahrungstemperaturen sind diese Erscheinungen schwächer.

Auch in anderer Beziehung noch beanspruchen die Bakterien der Coli-Aërogenes-Gruppe, wie Verf. weiter ausführt, ein nicht geringes Interesse, zunächst als Erreger des sogenannten Stallgeruchs und Stallgeschmacks in Milch und Butter. Je mehr derartige Bakterien im Säurewecker oder im Rahm vorhanden sind, desto stärker ist der Fehler. Bei geringeren Mengen, speziell solcher Varietäten der Aërogenes-Art, bei denen die Gasbildung eine stärkere, dagegen die Bildung scharf salziger, urinartiger Geschmacksstoffe schwächer ist, erhält die Butter mehr den Charakter einer „gailen“ Butter, ein Butterfehler, wie er bei Verunreinigung der Milch durch den Kot der bei Weidegang an Durchfall leidenden Kühe oft verursacht wird.

Es braucht aber, wie durch mehrere in dieser Richtung ausgeführte Untersuchungen gezeigt wird, der produzierte Geschmacksstoff nicht immer unangenehm zu sein; so führte Verf. eine Aërogenes-Bakterie an, die in Gemeinschaft mit einer gewöhnlichen Milchsäurebakterie der Butter einen frischeren, kräftigeren Charakter verlieh, und scheint es hierbei auf ein richtiges Verhältnis zwischen Vertretern jener Gruppe und den eigentlichen Milchsäurebakterien anzukommen. In geringer Zahl vertreten können die Coli-Aërogenes-Bakterien, falls sie nicht besondere unangenehme Eigenschaften aufweisen, teilweise sogar die Träger des Butteraromas sein, das übrigens, soweit es überhaupt Gärungsaroma ist, das Produkt einer glücklichen Kombination der gewöhnlichen Milchflora und der Milchsäurebakterien sein dürfte. Versuche in dieser Richtung, nämlich mittels besonderer, aromatische Stoffe produzierender Organismen verschiedener Art wohlschmeckende, aromatische Butter zu erzielen, zeitigten ein negatives Resultat.

Ein besonderes Kapitel beanspruchen die Untersuchungen betreffend die Variabilität physiologischer Eigenschaften von Bakterien. Die zuvor erwähnten Aromabakterien z. B., von denen übrigens eine ganze Reihe zur Aërogenes-Gruppe gehört, wie auch andere mit einer besonderen Eigenschaft begabte Organismen verlieren nicht selten mit der Zeit diese

ihre Eigenschaft, andererseits kann ihnen aber auch, wie experimentell festgestellt wird, ihre Eigenschaft wieder angezüchtet werden, indem sie vorerst in frühere natürliche Verhältnisse zurückversetzt werden. So wurde z. B. Pseudomonas Carotae die verlorengegangene Eigenschaft, einen Geruch nach Mohrrüben hervorzubringen, mittels Passage durch eine Mohrrübenblätterabkochung wieder gegeben. Ferner gelingt es, wie an verschiedenen Coli-Stämmen für Steckrübengeruch nachgewiesen wird, gewissen, durch reiche Variabilität sich auszeichnenden Bakterienarten, die Eigenschaft einer Geruchs- und Geschmacksbildung bis zu einem gewissen Grade anzuzüchten.

Aus der experimentell bewiesenen Tatsache, daß Coli-Bakterien bereits nach zweimaliger Züchtung in sterilisiertem Brei von zerquetschtem Hafer die Befähigung annahmen, Milch und Butter einen Geschmack und Geruch nach Steckrüben zu geben, schließt der Verf., daß die den zur Verfütterung gelangenden Rüben anhaftenden Coli-Bakterien, eben infolge der Rübenfütterung einseitig begünstigt, im Darme der Tiere gewissermaßen zu Steckrübenbakterien umgezüchtet werden. Die Idee, Haferbrei für den Umzüchtungsversuch zu verwenden, entsprang der gelegentlich einer Untersuchung über das Vorkommen von Milchsäurebakterien gemachten Beobachtung, wonach mit Bakterien von Hafer, ferner auch von Gerste und Malz geimpfte Milch einen intensiven Geschmack nach Rübenblättern angenommen hatte; jedoch war dieser wieder durch eine gleichzeitig auftretende Coli-Bakterie verursacht. Eine entsprechende Coli-Bakterie mit gleicher Wirkung trat auch an Spörgelsamen auf.

Zuletzt wird die früher gemachte Beobachtung, wonach bei Erzeugung des Steckrübengeschmacks verschiedenartige Mikroben fördernd mitwirken, insonderheit die zuvor erwähnte Actinomyces-Art, dann aber auch ein anderer bereits lange diesbezüglich verdächtiger, zuvor jedoch noch nicht näher studierter Pilz, das Penicillium brevicaule, das bei Weiterzüchtung auf künstlichen Nährböden bald einen ziemlich stark knoblauchartigen, fauligen, zugleich zusammenziehend herben und bitteren Geruch hervorrief, durch Butterungsversuche bestätigt, obgleich bemerkt werden muß, daß auch die Mitwirkung dieser Pilze noch nicht zur völligen Erzielung des natürlichen Rübengeschmacks geführt hat und die Forschungen in dieser Richtung vorläufig noch nicht als abgeschlossen gelten sollen.

Die gegen Schluß der Arbeit gegebene Zusammenfassung der Resultate sei hier im Wortlaut wiedergegeben:

1) Milch, welche bei Rübenfütterung nach vorherigem Waschen des Euters gewonnen, sofort entrahmt und unter Benutzung von Milchsäure zur Ansäuerung des Rahms direkt zu Butter verarbeitet wird, gibt Butter ohne oder mit nur schwachem, zweifelhaftem Rübengeschmack.

2) Milch, welche auf gewöhnliche Art gemolken ist und vor der Verarbeitung 12 Stunden sich selbst überlassen bleibt, gibt selbst bei genügend kühler Aufbewahrung Butter mit Rübengeschmack.

3) Die charakteristischen Bestandteile der Steckrübe sind Senföle und senfölartige Körper.

4) Die Destillation von Butter, die mit dem Fehler des Rübengeschmacks behaftet ist, gibt wohl ein scharf riechendes, als Senföl aber nicht erkennbares Destillationsprodukt. Dasselbe ist der Fall bei Milch, die bei Steckrübenfütterung gewonnen ist, und zwar zeigt sich kaum ein Unterschied, ob die Milch sich in den Zisternen des Euters angesammelt vorfindet oder ob sie erst als sogenannte letzte Milch erhalten wurde.

Immerhin konnte bei solcher Milch, einerlei ob erste oder letzte Milch, das Vorhandensein eines etwas schärferen tierischen Geruches wahrgenommen werden. Aus dem Umstand, daß dieser sich auch in der letzten Milch vorfindet, muß geschlossen werden, daß er vielleicht als Folge der fortgesetzten Ernährung mit Steckrüben einer inneren Ausdünstung zu verdanken ist und sich den Körpersäften mitteilt.

5) In der bei Steckrübenfütterung gewonnenen Milch darf also ein etwas veränderter Geruch und Geschmack gegenüber Milch, die durch andere Fütterung entstanden ist, angenommen werden, derselbe ist aber nicht derartig, daß aus ihm der Rübengeschmack der Butter entstehen kann.

6) Neben diesem besonderen ursprünglichen Charakter der „Rübenmilch“ (primäres Aroma) ist der Rübengeschmack der Butter bakteriologischen Ursprungs.

7) Bei der Fütterung mit Runkel- und mit Steckrüben enthält der Kot der Kühe fast ausschließlich Coli-Bakterien. Obwohl die Flora der Milch mit der des Kotes bei reinlicher Stallhaltung wenig gemein hat, enthält die Milch doch fast immer Coli-Bakterien.

8) Unter diesen, auch unter denen aus Milch, die bei Steckrübenfütterung gewonnen ist, befinden sich Abarten, welche einen kohlartigen und selbst direkt steckrübenartigen Geruch sowohl auf den künstlichen Nährböden, wie auch in Milch, und in letzteren auch einen dementsprechenden Geschmack verursachen.

9) Dieser letztere überträgt sich auch auf Butter von Milch oder Rahm, welche mit diesen Coli-Varietäten geimpft worden sind, jedoch ist der auf diese Weise künstlich erzeugte Steckrübengeschmack dem Rübengeschmack der auf natürlichem Wege gewonnenen Butter an Charakter wie auch an Stärke nicht völlig gleich.

10) Der durch Coli-Bakterien erzeugte Steckrübengeschmack kann verstärkt werden durch solche Bakterien und Eumyceten, welche die ersteren im „Rübenkot“ zu begleiten pflegen, wie Actinomyces odorifer, Penicillium brevicaule und Milchsäurebakterien, welche der Milch einen scharf sauren, etwa amphersauren Geschmack verleihen.

11) Von diesen Begleitmikroben vermögen Actinomyces odorifer und Penicillium brevicaule ihre auf den Nährböden erzeugten Geruchsprodukte steckrübenartig zu modifizieren. Außerdem scheint es aber auch noch unter den verflüssigenden, die Milch peptonisierenden Bakterien solche zu geben, welche unter gewissen Verhältnissen Steckrübengeruch und -geschmack verursachen können.

12) Die Steckrübengeruch erzeugenden Coli-Bakterien gehören der Gattung Pseudomonas an.

13) Eine ebenfalls zu den Pseudomonaden gehörende fluoreszierende Bakterie konnte als Erreger eines sehr kräftigen Geruches und Geschmackes nach Mohrrüben in Milch und auf Quark erkannt werden.

14) Der natürliche Steckrübengeschmack der Butter dürfte nach dem bisher Ermittelten als eine Kombination eines der frisch gewonnenen „Steckrübenmilch“ eigenen besonderen Aromas (primäres Aroma) einerseits und des von hauptsächlich coliartigen Pseudomonaden hervorgebrachten kohlartigen Steckrübengeschmacks des von Penicillium brevicaul erzeugten knoblauchartigen und des von Actinomyces odorifer bewirkten erdigen Bestandteiles, sowie schließlich des von gewissen Milchsäurebakterien roh- bis amphersauren Bestandteiles des Steckrübengeschmacks andererseits angesehen werden können.

15) Der kohlartige Steckrübengeschmack läßt sich solchen Coli-Bakterien, welche ihn ursprünglich bereits als besondere Eigenschaft besaßen, dann aber verloren haben, wieder anzüchten; er läßt sich aber auch solchen Coli-Bakterien, welche vorher damit nicht behaftet waren, als neue Eigenschaft anzüchten.

16) Ebenso lassen sich auch manchen anderen Bakterien physiologische Besonderheiten, deren sie durch künstliche Züchtung verlustig geworden sind, durch Zurückversetzen auf den vermutlichen natürlichen Nährboden wieder anerziehen.

17) Coli-Bakterien mit Steckrübengeschmack finden sich auch auf Hafer, Gerste, Mais und Spörgel.

18) Die Coli-Varietäten der Pseudomonas-Klasse sowie viele Aërogenes-Varietäten haben mehr oder weniger die Eigenschaft, die Milch unter Entwickelung von Kohlensäure und Wasserstoff zuerst mit süßlich-saurem Geschmack und stallähnlichem Geruch, dann mit salzig bitterem, ekelhaftem Geschmack und an faulenden Urin und Kuhkot erinnernden Geruch zu zersetzen und aufzulösen. Es finden sich aber auch Varietäten, bei welchen diese Eigenschaft stark in den Hintergrund tritt, und welche in Milch einen nicht unangenehmen, manchmal, wenigstens in der ersten Zeit des Wachstums, sogar aromatischen Geschmack hervorbringen.

19) Coli-Varietäten der ersteren Art geben, je nach ihrer Menge im Verhältnis namentlich zu den Milchsäurebakterien und wahrscheinlich in Verbindung mit irgendwelchen anderen Umständen, Veranlassung zu den in einer gewissen Abstufung stehenden Butterfehlern, Blendlingsware, gail, Stallgeschmack (nach „Kuhschwanz") und wahrscheinlich sind sie auch an den Butterfehlern futterig oder Futtergeschmack, bitter, mitbeteiligt. Coli-Bakterien finden sich aber auch in der feinsten Butter, wenn auch nur in sehr geringer Zahl.

Beim Vergleich dieser Ergebnisse mit den Erfahrungen in der praktischen Milchwirtschaft stellen sich verschiedene Tatsachen heraus, die im Lichte der vorausstehend dargelegten Forschungen in befriedigender Weise ihre Erklärung und Begründung finden.

So sind zunächst einmal Fälle in der Praxis bekannt, in denen Steckrübengeschmack auch dort auftrat, wo Rüben gar nicht gefüttert wurden, Verf. weist auf die diesbezüglichen Veröffentlichungen von V. Storch und C. O. Jensen hin; der Bacillus foeticus lactis des letztgenannten Autors, der Milch, ohne sie äußerlich zu verändern, den widerlich-fauligen, an Turnips oder Kohlrüben erinnernden Geschmack gibt, ist verwandt mit Bacterium coli commune (Escherich), von dem er sich jedoch in verschiedenen Punkten unterscheidet. Es sind von Jensen im ganzen vier Fälle von Rübengeschmack in Butter aufgedeckt, in denen der Fehler entstand, ohne daß Steckrüben gefüttert wurden. Ferner sind nach Verf. noch andere derartige Vorkommnisse in der Milchwirtschaft beobachtet, die also alle für die Unwahrscheinlichkeit der Entstehung des Rübengeschmackes durch einen Geschmacksstoff der Rübe selbst sprechen. Sebelin und Ritland z. B., ferner Schaller haben im gleichen Sinne die Wahrnehmung gemacht, daß selbst bei starker Rübenfütterung der Steckrübengeschmack nicht auftritt, sofern die Milch vor Verunreinigung geschützt wird. Der Vorschlag, durch entsprechendes Beifutter dem Geschmacksfehler vorzubeugen, ferner die Erfahrung, daß dieser infolge der vor sich gehenden Verunreinigung der Milch am stärksten zu Anfang der Rübenfütterungsperiode auftritt, sind weitere Argumente dafür, daß der Geschmacksstoff der Rübe die Ursache des Butterfehlers nicht ist.

Die Annahme, daß die frische Milch, die ja allerdings diesbezüglich sehr empfindlich ist, aus der Stalluft den betreffenden Geruch aufnimmt, kontrastiert mit der Tatsache, daß der Geruch bei der Behandlung derselben verloren geht, während doch im gegebenen Falle umgekehrt der Fehler gerade zunimmt. Praktische Erfahrungen zeigen, daß der Rübengeschmack unterbleibt, wenn ein entsprechendes Beifutter gegeben wird oder der Kot der Tiere mittels Kalkmileh desinfiziert und so einer Infektion der Milch vorgebeugt wird; es wird also der Fehler in überwiegendem Maße bakteriologischen Ursprungs sein. Auch durch die Erhitzung der Milch bei starker Rübenfütterung kann das Uebel verhütet werden, indem so der vorhandene Geruch ausgetrieben wird, resp. die Rübenbakterien abgetötet werden, wobei allerdings, um den Rübendunst zu vertreiben, eine Durchlüftung der Milch notwendig erscheint. In Pasteurisierapparaten in der Praxis werden die in Frage kommenden Keime, die zur Sporenbildung nicht befähigt sind, durch kurzdauernde Einwirkung von 85° C, besser 90—95° oder durch die übliche Dauererhitzung auf 60—65° C, abgetötet. Ein letztgenanntes, in der Praxis gebräuchliches Mittel, den Steckrübengeschmack zu bekämpfen, ist die Anwendung von Kalisalpeter, wie er auch in der Käserei zur Verhütung der Blähung der Käse, die fast immer durch Coli-Bakterien verursacht wird, verwendet wird. Seine Wirkungsweise erklärt Verf. damit, daß einmal der vom Kalisalpeter sich leicht abspaltende Sauerstoff eine oxydierende Wirkung auf den in der Milch bereits vorhandenen, den Rübengeschmack bedingenden Stoff ausüben könnte, zweitens käme das Verhalten des Kalisalpeters den Coli-Bakterien gegenüber in Betracht, dergestalt wie es F. W. J. Boekhout und J. J. Ott de Vries (Centralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. XII. 1904. p. 89) dargelegt haben. Nach Verf. scheint es nicht ausgeschlossen, daß der Steckrübengeschmack durch eine besonders geartete Umwandlung des Milchzuckers herbeigeführt oder doch wenigstens eingeleitet wird, und daß der Kalisalpeter, wenn er zur Milch oder, was bei der Butterbereitung rationeller ist, zum Rahm zugesetzt wird, diese Zersetzung verhindert, indem die Coli-Bakterien den von ihnen benötigten Sauerstoff nicht dem Milchzucker, sondern dem Salpeter entziehen.

Schließlich hatte Verf. Gelegenheit, Mycelpilze zu beobachten, von denen besonders der eine, ähnlich wie das Penicillium, einen steckrübenartigen, resp. phosphorwasserstoffartigen Geruch auf künstlichen Nährböden, speziell auf Molkengelatine, erzeugt; zwei Butterungsversuche mit diesem Pilz ergaben einmal Butter mit sehr deutlichem Rübengeschmack, das andere Mal, allerdings unter etwas anderen Verhältnissen, eine Art Rohgeschmack, der aber der Butter keineswegs zum Nachteil gereichte. Ein Butterungsversuch mit Penicillium brevicaule lieferte Butter mit dem eigenartigen Rohgeruch und Rohgeschmack, nicht oder wenigstens kaum mit eigentlichem Rübengeschmack, entsprechend dem etwas anders gearteten und auch schwächeren Riechstoffbildungsvermögen des Pilzes.

Eine eingehende Beschreibung dieser Pilze soll demnächst veröffentlicht werden. Wolff (Kiel).

Rühm, Zur Frage der Pathogenität der Streptokokkenmilch. (Wochenschr. f. Tierheilkunde u. Viehzucht. 1908. p. 165.)

Rühm berichtet über die von Albrecht an der geburtshilflichen Station der tierärztlichen Hochschule in München an 7 neugeborenen Kälbern, 3 Kitzen, 4 kleinen Hunden, 2 Hühnern und 2 Meerschwein-

chen mit streptokokkenhaltiger Milch vorgenommenen Fütterungsversuche. Bei den Kälbern wurde auch der Nabel mit Eitermilch bestrichen. Nur bei einem Hunde konnte eine geringe Temperatursteigerung, bei einem anderen Erbrechen nach dem Genuß der streptokokkenhaltigen Milch beobachtet werden; bei den übrigen Tieren verliefen die Fütterungsversuche vollständig negativ. Rühm glaubt aber, im Einklang mit Albrecht und mit Rücksicht auf die Erfahrungen in der Praxis, trotz dieses negativen Resultates nicht den Schluß ziehen zu dürfen, daß die streptokokkenhaltige Milch für die Tiere nicht pathogen sei.

Seibold (Stuttgart).

Høye, Kr., Untersuchungen über die Schimmelbildung des Bergfisches. (Bergens Museums Aarbog. 1908. Heft 1. No. 4. p. 1—29. Mit 10 Texttafeln.)

Es wurde vermutet, der Schimmelbildung des getrockneten Bergfisches könne durch Verwendung einer Salzgattung von niedriger Hygroskopizität vorgebeugt werden. Die Versuche des Verf. ergaben aber folgendes: 3 Monate nach dem Fertigtrocknen zeigten alle Fischstücke eine reiche Entwickelung von Torula epizoa ohne wahrnehmbaren Unterschied zwischen den mit verschiedenen Salzsorten behandelten Stücken. Eine Trockenzeit von 5 Wochen ist nicht imstande, die Zellagglomerationen bei starker Infektion des Fisches zu töten. Das Torreviejasalz ist kein Mittel gegen die Schimmelbildung des Bergfisches. Eine wahre Brutstätte des genannten Pilzes ist jedes Salzlager, das fortwährend zum Lagern dient und das nicht desinfiziert wird. Die Keime gelangen von angesteckten Lagerhäusern in andere, bisher intakte. Daher muß und soll auf eine streng durchgeführte Desinfektion mittels 2-proz. Formalinlösung gesehen werden. Die Uebertragung der Keime erfolgt durch Luftströmungen. Die nebenbei gefundenen Organismen: Micrococcus β, Bacillus γ und Sarcinomyces islandicus sind als unschädlich zu bezeichnen. — Das Auftreten von roten Bakterien in den Salzladungen ist verdächtig und verdient die Aufmerksamkeit der Fischproduzenten. Flüchtig beurteilt, gehören sie alle zu einer und derselben Form, ovale Kokke, 1 μ im Diameter. Auf 17-proz. NaCl-enthaltender Mehlgrütze bildeten sie wenig ausgeprägte, schleimige Kolonieen. Das Verhalten dieser Form zum Fische muß noch näher studiert werden.

Matouschek (Wien).

Schellenberg, H. C., Untersuchungen über das Verhalten einiger Pilze gegen Hemicellulosen. (Flora. Bd. XCVIII. 1908. Heft 3. p. 257—308.)

Hauptresultate:

1) Die Pilze sind in bezug auf die Lösung von Cellulosen spezialisiert. Streng ist die Lösung der echten Cellulose von den Hemicellulosen getrennt. Oft handelt es sich um die Lösung von Hemicellulosen, wo von echten Cellulosen in der Literatur die Rede ist.

2) Gegen Hemicellulosen zeigen die Pilze im Lösungsvermögen auch große Differenzen. Vier verschiedene Fermente wurden da konstatiert: Molinia-Ferment (Molinia coerulea), Dattelferment (Dattelkerne), das Lupinus-Ferment (Lupinus hirsutus) und das Amyloidferment (Cyclamen europaeum und Impatiens balsamina). Die Fermente sind also nach den typischen Materialien genannt.

3) Nicht die Löslichkeit der verschiedenen Cellulosen in Säuren ist entscheidend für das Lösungsvermögen der Pilze für diese Stoffe, sondern es ist allein die chemische Konstitution der Substanz, die den Ausschlag gibt.

4) Gestützt werden diese Ergebnisse durch das Verhalten der Pilze bezüglich ihrer Zersetzungen in toten und lebenden Pflanzenkörpern. Durch Einwirkung von Pilzen ist es möglich, die Hemicellulosen von den Cellulosen in den unverholzten Geweben zu trennen.

5) Sicher werden die Pilze bei der Zersetzung der Pflanzensubstanzen im Boden eine viel größere Rolle spielen, als man bisher annahm.

6) Von Pilzen wurden untersucht: Mucor racemosus Fr., Mucor globosus A. F., M. neglectus Vuill., M. piriformis A. F., Rhizopus nigricans, Thamnidium elegans Link, Penicillium glaucum L. in verschiedenen Rassen, Sclerotinia fructigena und cinerea Schr., Botrytis cinerea, vulgaris Fr., Nectria cinnabarina T., Cladosporium herbarum Pers., Trichothecium roseum Sacc., Colletotrichum Lindemuthianum (Sacc.).

Matouschek (Wien).

Schöne, Albert, Ueber durch Mikroorganismen hervorgerufene Gallert- und Schleimbildung in Rohzuckerfabriken. (Die Deutsche Zuckerindustrie. Jahrg. 33. 1908. p. 699.)

Aus bisher vorliegenden Literaturangaben geht einerseits hervor, daß man die Bildung von gallertartigen oder zähen, fadenziehenden Massen in Säften oder anderen Produkten der Rohzuckerfabrikation auf die Gegenwart von Leuconostoc oder auf diejenige von Stäbchenbakterien zurückgeführt hat, während aus anderen Berichten jedoch nicht ersichtlich ist, ob Leuconostoc oder ein anderer Mikroorganismus als der Erreger anzusehen ist. Verf. hat nun Gelegenheit gehabt, in den letzten Jahren wiederholt in Zuckerfabriken aufgetretene Schleimbildungen zu untersuchen und berichtet ausführlich über die erhaltenen Resultate. In einer Zuckerfabrik hatten sich unter den Filterpressen schleimige Massen gebildet, von grauweißer Farbe, durchscheinend und kleistrig. Die Untersuchungen ergaben, daß hier zweifellos ein sowohl dem Clostridium gelatinosum Laxa als auch dem Semiclostridium Maassen nahestehender Organismus vorlag. Außerdem fanden sich in der Gallertmasse auch Klümpchen von Leuconostoc-Gallerte vor, ein bisher noch nicht wahrgenommener Befund. Eine Gallertbildung aus einer zweiten Zuckerfabrik war knorpelig hart, wie aus gequollenem Sago bestehend, aber härter als dieser und schwer zu zerdrücken und zu zerteilen. In der Hauptsache war Leuconostoc vertreten und daneben waren zahlreiche Hefezellen zu beobachten. Dieser Fall lehrt, daß Leuconostoc imstande ist, je nach der Art der ihn begleitenden Organismen oder des ihn umgebenden Mediums die Konsistenz seiner Gallerte zu verändern. Ein Rohsaft aus einer dritten Zuckerfabrik war in lebhafter Gärung begriffen, schaumig und bestand der Hauptmasse nach aus einem gleichmäßigen, gummiartigen Schleim, der sich zu langen Fäden ausziehen ließ. Isoliert wurde ein bewegliches Stäbchen von 0,8—1,0 μ Dicke und 4,0—10,0 μ Breite. Bei der Sporenbildung nahmen die Stäbchen Clostridium-Form an. Verf. nennt diesen Organismus vorläufig Clostridium L. Verf. untersuchte schließlich eine flockige Schleimbildung im Diffusionssafte, die eine grauschwarze, flockige, zähe Masse darstellte und Aehnlichkeit mit grobem Eiweißgerinsel zeigte. Die Masse war in Gärung begriffen und roch nach Alkohol. Die Natur des Erregers festzustellen, war sehr schwierig, doch gelang es schließlich festzustellen, daß eine typische Cladothrix-Art als Erreger der Flockenbildung vorlag. Die beobachtete Schaumbildung

und der Alkoholgeruch sind sehr wahrscheinlich der auch hier wieder die abnormale Erscheinung begleitenden Hefe zuzuschreiben.

Sowohl aus der Literatur wie aus den Untersuchungen des Verf. geht hervor, daß das so oft beobachtete Auftreten von schleimigen und gallertigen Gärungen auf ganz verschiedene Arten von Erregern zurückgeführt werden kann. Ein näheres Studium dieser oft recht störenden Bildungen ist sehr wünschenswert und liegt auch im Interesse der Zuckerindustrie. Stift (Wien).

Vogel, Die für die landwirtschaftliche Praxis wichtigsten Ergebnisse der bodenbakteriologischen Forschung. (Westpr. landwirtschaftl. Mitteilungen. 1908. No. 7.)

Verf. gab gelegentlich eines Vortrags einen kurzen Ueberblick über das von der bodenbakteriologischen Forschung bisher für die Praxis Erreichte, und bezeichnete die Wege, auf welchen die noch vielfach im Stadium der ersten Entwickelung befindlichen Methoden auszubauen sind. Die weitere Vervollkommnung des von Remy zuerst angewandten Verfahrens, die bakteriellen Kräfte des Bodens dadurch zu charakterisieren, daß die physiologische Leistungsfähigkeit der wichtigeren Bakteriengruppen auf einen zahlenmäßigen Ausdruck gebracht wird, wird eine willkommene Ergänzung der chemisch-physikalischen Bodenuntersuchung bringen. Die Erkenntnis der Lebensbedingungen, insbesondere des Luft- und Nährstoffbedürfnisses der Bodenbakterien hat manche Maßnahmen der Bodenbearbeitung und Düngung als zweckmäßig oder auch als unrationell erkennen lassen.

In größerem Maße sind die Ergebnisse der agrikulturbakteriologischen Forschung bereits in die Praxis übertragen worden bei der Impfung der Hülsenfrüchte und Kleearten mit Reinkulturen von Knöllchenbakterien. Das neue Nitrogin hat sich nicht nur in der Hand seines Schöpfers Hiltner, sondern auch bei anderen Versuchsanstellern als ein Impfmittel erwiesen, das die Hülsenfrüchte unter Umständen sehr erheblich in ihrer Entwickelung und ihrem Stickstoffansammlungsvermögen begünstigt. Verf. hat selbst einige Fälle von ausgezeichneter Impfwirkung beobachtet, die allerdings wohl zu denjenigen zu rechnen sind, wo die betreffenden Leguminosen bisher nur selten oder niemals zum Anbau gekommen waren, und daher die Wahrscheinlichkeit eines Impferfolges von vornherein bestand. Zahlreiche Versuchsresultate weisen aber darauf hin, daß, wenigstens in manchen Gegenden, durch die Samenimpfung auch dann beachtenswerte Erfolge erzielt werden können, wenn die betreffenden Leguminosen schon seit langem angebaut werden. Bei Anwendung des Nitragins werden dem Boden hochwirksame Knöllchenbakterien zugeführt, es bringt daher sichere Erfolge, wenn gut angepaßte Knöllchenbakterien im Boden fehlen, die sonstigen Bedingungen aber dem Leguminosenwachstum günstig sind. Ist letzteres nicht der Fall, oder sind bereits wirksame Knöllchenbakterien in großer Zahl vorhanden, dann wird man von der Impfung mit Nitragin keine bemerkenswerte Ertragssteigerung erwarten dürfen. Autoreferat.

Grosbüsch, J. J., Rhizobium radicola H. in verschiedenen Nährmedien. [Inaug.-Diss.] 30 p. Bonn 1907.

Auf festen Nährböden, die Gramineenextrakte enthielten, entwickelte sich der Pilz ebensogut wie auf festen Leguminosenextraktnährböden.

Kokkenähnliche Bakterienformen entwickelten sich in Gramineennährböden, deren Gelatine nicht neutralisiert war.

Unter dem Einfluß ungünstiger Lebensbedingungen gingen die normalen Bakterienformen zur Bakteroidenbildung über.

Die Ueberimpfung von Bakterienkulturen, die auf Gramineennährböden gezüchtet waren, auf Gramineenpflanzen, ergab ein negatives Resultat. Eine Infektion mit Rhizobium radicola ließ sich niemals feststellen.

In flüssigen Gramineenextraktnährmedien fand, ebenso wie in Leguminosenextraktlösungen, üppige Vermehrung der eingeimpften Bakterien statt, während eine solche in pflanzenextraktfreien Nährlösungen ausblieb.

Im einzelnen zeigten die Bakterienformen in den Gramineenextraktlösungen bemerkenswerte Unterschiede gegen die Formen, welche in Leguminosenextraktlösungen gezüchtet wurden.

Der Einfluß bestimmter Nährsalze auf die Bakterienentwickelung in Extraktlösungen macht sich in der verschiedensten Weise geltend, besonders auffällig durch Formveränderungen der eingeimpften Bakterien, je nach der Natur dieser Salze und der Konzentration, in welcher sie in jenen Lösungen enthalten waren. E. Roth (Halle a. S.).

Egorow, Zur Frage über den Einfluß von Schwefelkohlenstoff auf Boden und Pflanze. (Journal für experimentelle Landwirtschaft. Bd. IX. 1908. Heft 1.)

Verf. findet, daß bisher Untersuchungen über das Verhalten des Bodens zum Wasser unter dem Einfluß des Schwefelkohlenstoffs fehlen, und hat deswegen mit vier Bodenarten darüber Versuche angestellt. Dieselben haben folgende Schlüsse ergeben:

1) In allen Fällen war das kapillare Steigen des Wassers in den mit Schwefelkohlenstoff behandelten Bodenklümpchen langsamer, als in den nicht behandelten.

2) Die wasserhaltende Kraft der Klümpchen wird durch Schwefelkohlenstoff herabgesetzt.

3) Die Wassermenge, die auf 1 cm Steighöhe entfiel, schien in den Kontrollproben bei gleichem Niveau etwas größer zu sein.

4) Die Benetzbarkeit des Bodens wird durch Schwefelkohlenstoff in bedeutendem Grade herabgedrückt, besonders bei Torfboden.

Ferner hat Verf. Vegetationsversuche in Gefäßen unter Behandlung mit Schwefelkohlenstoff durchgeführt, wobei am Schluß des Versuches Schwefelkohlenstoff noch in allen den Gefäßen festgestellt werden konnte, in denen er verwendet war, so daß die Entwickelung der Pflanzen die ganze Zeit in Anwesenheit desselben vor sich gegangen ist. Verf. glaubt, diesen Versuch als Argument gegen die Autoren benutzen zu können, die, wie Hiltner und Heinze, sich bemühen, den günstigen Einfluß des Schwefelkohlenstoffs auf die Pflanzen durch Stickstoffwirkung zu erklären. Nach ihm findet eine Steigerung des Stickstoffgehaltes im Boden zwar statt, aber erst nach Entfernung des Schwefelkohlenstoffs, so daß in dem vorliegenden Fall, wo derselbe dauernd in der Erde vorhanden war, eine andersgeartete Ursache für die erheblich günstige Wirkung auf die Pflanzen anzunehmen ist.

Verf. glaubt, auch noch auf Grund andersgearteter Versuche, ohne damit andere Erklärungen völlig ablehnen zu wollen, doch die bei seinen Versuchen ermittelte, günstige Schwefelkohlenstoffwirkung als Reizwirkung bezeichnen zu sollen. Ehrenberg (Breslau).

Loew, O., Ueber die physiologische Wirkung des Dicyandiamids. (Chem.-Ztg. 1908. p. 57.)

Da das Calciumcyanamid in der Landwirtschaft als Stickstoffdünger Verwendung findet und im Boden zweifellos zunächst durch Bakterien umgewandelt wird, da ferner das Cyanamid bei alkalischer Reaktion oder Einwirkung warmen Wassers Dicyandiamid bildet, so dürfte die physiologische Wirkung auch des letzteren hier interessieren. Alkalisch reagierende Böden sind in Ländern mit künstlicher Bewässerung keine Seltenheit, die partiäre Bildung von Dicyandiamid ist also darin nicht ausgeschlossen. In gewöhnlichen Böden freilich dürfte jenes Düngemittel lediglich Calcium- und Ammoniumkarbonat liefern.

Für Dicyandiamid wurde schon von Ulpiani und Perotti gefunden, daß es ungiftig für Feldpflanzen sei und sogar als Stickstoffquelle verwendet werden könne. Es wird aber nach Kappen im Boden nur sehr langsam ammonisiert, weit langsamer als Calciumcyanamid. Auch O. Loew schloß aus seinen Versuchen, daß Dicyandiamid für viele Bodenbakterien keine günstige Stickstoffquelle bildet. Nährlösungen, welche als organische Stoffe Natriumacetat (0,5 Proz.) und Mannit (0,1 Proz.) und als Stickstoffquelle nur Dicyandiamid enthielten, wurden nach dem Sterilisieren mit einer geringen Menge Gartenerde geimpft und bei 24° C gehalten. Selbst nach 8 Tagen war hier nur eine geringe Trübung und eine dünne Bakterienhaut zu beobachten, allerdings etwas mehr als im Kontrollversuche ohne Zusatz einer Stickstoffverbindung. Etwas Azotobacter (Beijerinck) war in beiden Lösungen vorhanden, ferner Stäbchenbakterien und im Kontrollgefäß auch Monadinen. Die Reaktion war in beiden Fällen fast ganz neutral geblieben. Bei Kontrollversuchen mit Ammonsulfat bew. Dicyandiamidinsulfat als N-Quelle hingegen war die Reaktion stark alkalisch geworden, flockige Massen und dicke Häute von Bakterienvegetation waren sichtbar.

Andere niedere Organismen zeigten gegen Dicyandiamid eine auffallende Indifferenz. Selbst in einer 1-proz. Lösung blieben Fäden von Algen (Spirogyra) mehrere Tage völlig intakt, Monadinen, Infusorien und Amöben bewegten sich noch nach einem Tage, Diatomeen und Euglenen sogar noch nach 3 Tagen in dieser Lösung. Im Vergleichsversuch mit Biuret und Harnstoff erwies sich ersteres ebenfalls wenig schädlich, letzterer aber wirkte auf jene Organismen schädlicher als Dicyandiamid. Guanidin und Dicyandiamidin als Sulfate töteten jene Organismen bei gleicher Konzentration (1 Proz.) in 10 Minuten; bei 0,1 Proz. blieben sie jedoch mehrere Tage am Leben. Freies Guanidin von 0,1 Proz. tötet Algen binnen einigen Stunden ab. Bakterien werden in ihrem Wachstum nicht im mindesten geschädigt, wenn 0,5 Proz. Dicyandiamid zu Bouillon gesetzt und diese infiziert wird. Für Wirbeltiere ist Dicyandaimid ebenfalls kein Gift. Junge (Topf-)Gerstenpflanzen wurden bei O. Loews Versuchen binnen 10 Tagen nur unbedeutend geschädigt, als zum Boden 4 Prom. des Bodens Dicyandiamid (in verdünnter Lösung) hinzugefügt wurde. Elodea (die Wasserpest) wird durch Dicyandiamid in 0,2-proz. Lösung nicht nur nicht geschädigt, sondern letzteres wird sogar als Stickstoffquelle verwendet.

Es knüpft sich daran die Frage nach der chemischen Konstitution des Dicyandiamids, welche von verschiedenen Chemikern (Baumann, Hofmann, Rathke, Bamberger, Pohl) verschieden angegeben wurde; O. Loew hält auf Grund seiner Versuche die Imidringformel für die wahrscheinlichste. Th. Bokorny (München).

Störmer, Ein Versuch zur weiteren Verbesserung des Reinkultur-Impfverfahrens für Leguminosen. (Mitteil. d. landwirtschaftl. Institutes d. Univ. Leipzig. 1907. Heft 8. p. 115).

Verf. weist darauf hin, daß für die „Wirksamkeit" der Knöllchenbakterien mindestens zwei Fähigkeiten maßgebend sind, einmal das Vermögen, in den Pflanzenkörper einzudringen und sich darin zu vermehren, wofür in Anbetracht dieser rein parasitären Leistung der Ausdruck „Virulenz" beibehalten werden kann, dann aber das in symbiotischer Wechselwirkung mit der Pflanze sich ergebende „Stickstoffsammlungsvermögen". Es ist von großer Wichtigkeit, bei der Fortzüchtung der Knöllchenbakterien auf künstlichen Nährböden Virulenz und Stickstoffsammlungsvermögen durch geeignete Maßnahmen zu erhalten. Die günstigen Erfahrungen Schneiders mit Kreidekulturen veranlaßten Verf. zu Impfversuchen unter gleichzeitiger Zugabe von Kalksalzen.

Die Samen wurden in der üblichen Weise mit der Impfflüssigkeit benetzt, hierauf mit kohlensaurem Kalk oder Gips eingepudert und zur Aussaat gebracht. Die unter Verwendung von Sojabohnen auf kleinen Freilandparzellen durchgeführten Versuche ergaben, daß die Kalksalze allein die Nährstoffe (Pepton, Traubenzucker) nicht zu ersetzen vermögen, daß sie aber eine ganz beträchtliche Steigerung der Knöllchenbildung dann herbeiführen konnten, wenn sie gleichzeitig mit den Nährstoffen verwendet wurden. Verf. empfiehlt daher den Zusatz von Calciumkarbonat und Gips bei der Impfung der Leguminosen, weil dadurch die Absicht, möglichst zahlreiche Knöllchen an den Wurzeln zu erzeugen, entschieden besser erreicht wird, als ohne die Verwendung beider Mittel. Er hält es für möglich, daß die bekannte günstige Wirkung von Gips beim Kleebau auf einer Begünstigung der Knöllchenbakterien beruht.

Von Interesse ist das vom Verf. mitgeteilte Ergebnis eines Impfversuches zu Erbsen mit Münchner Kulturen, bei welchem deutlich Erscheinungen von Stickstoffüberernährung infolge der Impfung zutage traten. Der Gesamtertrag an Trockensubstanz und Stickstoff (allerdings nur in je 12 Pflanzen der verschieden behandelten Parzellen festgestellt) war bei geimpft höher als bei ungeimpft, die Ausbildung der Früchte war jedoch im letzteren Falle erheblich besser erfolgt.

Vogel (Bromberg).

Potonié, H., Eisenerze, veranlaßt durch die Tätigkeit von Organismen. (Naturwissenschaftl. Wochenschr. 1906. p. 161—168. Fig. 1—8.)

Verf. bespricht die durch Bakterien, Algen (besonders die Diatomeen, Desmidiaceen), durch Moose und andererseits durch Protozoen veranlaßten Ferrihydroxydabscheidungen in Gewässern, die Eisenkarbonat enthalten. Matouschek (Wien).

Zellner, Julius, Chemie der höheren Pilze. Eine Monographie. gr. 8. IV + 257 p. Leipzig (Wilh. Engelmann) 1907.

Die naturwissenschaftliche Literatur der Jetztzeit zeigt eine große Zahl von Kompendien über kleinere Wissensgebiete, was bei der Unzahl von Arbeiten, die jährlich über eng umgrenzte Gebiete erscheinen, wohl zu rechtfertigen ist, weil man dadurch dem mühseligen Literaturnachschlagen enthoben wird. In die genannte Kategorie gehört auch das Zellnersche Buch, das mit vielem Fleiß eine überaus reiche Literatur zusammenträgt und geschickt und knapp zu einem Ganzen verarbeitet, zu einem Werke, das jedem, der mit der Chemie der Pilze bei seinen Arbeiten in Berührung kommt, gute Dienste leisten und unentbehrlich werden wird.

Da über die Chemie der Bakterien, Hefen und Schimmelpilze mehrfach in landwirtschaftlich-technischen Werken die Rede ist, hat der Verf. diese Pilze ausgeschlossen und in seiner Arbeit die übrigen Pilzgruppen behandelt, die er „höhere Pilze" nennt. Es sind also nicht nur Hutpilze darin behandelt, wenn schon diese ihrer Größe wegen am häufigsten chemisch untersucht wurden und darum darüber das meiste zu berichten ist.

Die Anordnung des Stoffes ist nach chemischen Gesichtspunkten erfolgt. In 22 Kapiteln erfahren wir alles Wissenswerte über die Chemie der Pilzwände und der verschiedenen Zellinhaltsstoffe, unter ständiger Zitierung der Originalliteratur. Die Uebersichtlichkeit wird durch zahlreiche Tabellen sehr erhöht. Auf die einzelnen Kapitel des rein chemisch abgefaßten Werkes kann hier nicht näher eingegangen werden; wer sich mit der Chemie der Pilze beschäftigt, wird ohnehin zu dem Buch selbst greifen müssen. Nur einige Bemerkungen von allgemeinem Interesse sollen noch Platz finden. So steht auch der Verf. auf dem Standpunkte, daß die Pilze keineswegs ihres hohen N-Gehaltes wegen auch einen hohen Nährwert haben, und daß sie deshalb mehr als Surrogat, als als Nahrungsmittel aufzufassen sind. Nur in Ländern mit geringer Gemüseproduktion kommen Pilze als billiges Volksnahrungsmittel in Betracht, wie z. B. in manchen Gegenden Italiens, Oesterreichs, Deutschlands, Rußlands und besonders Japans. Der Stickstoff der Pilze ist zum größten Teil in unverdaulicher Form vorhanden, es geht darum nicht an, ihn ohne weiteres als Protein zu berechnen. Zum Schlusse gibt Verf. eine Uebersicht der allgemeinen Ergebnisse, die bei der chemischen Untersuchung der Pilze erzielt wurden. Er teilt hier die Pilze vom chemischen Standpunkte aus in 5 Gruppen ein: saprophytische Humusbewohner, Koprophyten, holzbewohnende Pilze, Pflanzenparasiten, auf verschiedenen Organen lebender Pflanzen schmarotzend, und Tierparasiten. Von diesen sind aber nur die erste und dritte Gruppe eingehender untersucht, alle übrigen spärlich oder gar nicht, so daß hier noch viel zu tun übrig bleibt. — Durch ein vollständiges Arten- und Sachregister wird die inhaltlich reiche Arbeit für den Gebrauch um so wertvoller.

K. Müller (Augustenberg).

Höhnel, Franz v., Fragmente zur Mykologie. IV. Mitteilung. No. 156—168. (Sitzungsberichte der Kaiserl. Akademie der Wissenschaften in Wien, mathem.-naturw. Klasse. Bd. CXVI. 1907. Heft 4/5. p. 615—647.).

Diese Mitteilung beschäftigt sich zumeist mit Fungi imperfecti. Viele früher aufgestellte Arten werden eingezogen, andere in das Synonymregister verwiesen. Verf. ging dabei recht kritisch vor, da er auf Originalexemplare zurückging. Auch einige neue Arten werden beschrieben. Klargestellt wird insbesondere die Gattung Myriocarpa und die 2 von Fuckel hierher gerechneten Arten, die Familie der Coronophoreen Höhn., die Familie der Pseudosphäriaceen mit den Gattungen Wettsteinina Höhn., Pseudosphaeria Höhn., Scleroplea (Sacc.) Oud. emend. Höhn., Pyrenophora Fr. emend. Höhn., das neue Genus Coleophoma (wozu Ascospora crateriformis Dur. et Mont. gehört), das neue Genus Plectophoma (Sphaeropsideae), das Genus Actionema. Matouschek (Wien).

Heimerl, Anton, III. Beitrag zur Flora des Eisacktales. (Verhandlungen der k. k. zoologisch-botan. Gesellschaft in Wien. Bd. LVII. 1907. p. 415—432 u. p. 433—457.)

Eine wesentliche Ergänzung des vom Verf. 1905 in oben genannter Zeitschrift publizierten Pilzbeitrages. Die im III. Bericht erwähnten Funde stammen aus den Jahren 1905 und 1906 aus der Umgebung von Brixen (Tirol). — Uns interessiert hier nur folgendes:

1) Der südliche Charakter der Brixener Pteridophyten- und Anthophytenflora spricht sich auch in der Pilzflora aus; z. B. gehören zu den meridionalen Elementen: Uromyces Genistae tinctoriae, U. graminis, Puccinia Absinthii, P. Lactucae perennis, P. Cesatii und P. Allii, Gymnosporangium Sabinae (alle diese Arten fand Fischer auch in der Schweiz); ferner Puccinia australis, Uromyces ambiguus, U. Caraganae, Puccinia obscura, P. Passerinii, P. chondrillina, P. Silenes und P. Cynodontis, welche Arten erst für Bozen, Meran und Trient in dem Pilzbande von Dalla-Torre-Sarntheims Flora von Tirol angeführt werden.

2) Nach Bubák soll zu Uromyces graminis das Aecidium Seseli auf Seseli glaucum gehören; doch muß sicher ein anderer Aecidienträger hier vorliegen, da diese Seseli-Art in ganz Tirol fehlt.

3) Von Ovularia Bistortae wird als neue Wirtspflanze Polygonum viviparum angegeben.

4) Viele kritische und die Diagnose betreffende Bemerkungen beziehen sich auf die Fungi imperfecti. Matouschek (Wien).

Strasser, Pius, Vierter Nachtrag zur Pilzflora des Sonntagsberges (N.-Oesterreich), 1904. (Verhandl. der k. k. zool.-botan. Gesellsch. in Wien. Bd. LVII. 1907. p. 299—340.)

Kritische Bemerkungen zu einer großen Anzahl von saprophytisch lebenden Basidiomyceten, Pyrenomyceten und Discomyceten, die auf vermoderten oder alten Hölzern auftreten. Neue Arten werden mit lateinischer Diagnose beschrieben; sie wurden von Bresadola, Rehm und v. Höhnel revidiert. Matouschek (Wien).

Rytz, W., Beiträge zur Kenntnis der Pilzflora des Kientales (Berner Oberland). (Sep. aus den Mitt. d. naturf. Gesellsch. Bern aus dem Jahre 1907.)

Vorliegende Publikation legt den Grund zu einer Monographie der parasitischen Pilze des Kientales.

Das Hauptaugenmerk war auf Chytridineen und Uredineen gerichtet. Für jeden Standort ist die Höhenlage angegeben, was besonders deshalb, weil das Exkursionsgebiet bis 2000 m Höhendifferenz aufweist, besonderes Interesse darbietet.

Für die Gattung Synchytrium fanden sich eine ganze Reihe neuer Arten und Nährpflanzen; von Uredineenfunden seien erwähnt ein Aecidium auf Aconitum variegatum, ferner Puccinia Campanulae auf Campanula pusilla und Puccinia albulensis auf Veronica aphylla. Schneider-Orelli (Wädenswil).

Magnus, Paul, Die von J. Bornmüller 1906 in Lydien und Carien gesammelten parasitischen Pilze. (Hedwigia. Bd. XLVII. p. 133—139. Mit 3 Textabbildungen.)

Ustilago Hordei (Pers.) Kell. et Swingle tritt auf Hordeum murinum L. var. leporinum Lk. auf; auf dieser Art tritt in Californien Ust. Lorentziana Thüm. und in Algier Tilletia Trabutii Jacz. auf. — Das junge Fruchtlager bildet sich bei Ustilago Ischaemi Fckl. zwischen der Achse und der Oberhaut der Infloreszenzzweige aus; außen bildet es eine hyaline mehrschichtige Hülle, welche Zellen der Epidermis einschließt. Diese Hülle umgibt außen das Sporenlager, dessen Matrix

von der Achse ausgeht. Die Matrix ist nicht mit der Columella von Sphacelotheca zu vergleichen, deswegen stellt Verf. im Gegensatze zu Clinton diese Art nicht zur Gattung Sphacelotheca. Mit demselben Rechte wie Ust. Ischaemi müßte man auch Ust. Panici miliacei (Pers.) Wint., Ust. cruenta J. Kühn, Ust. lanigeri P. Magn., Ust. Bornmülleri P. Magn., Cinctaria Crus galli (Tr. et Earle) zu Sphacelotheca stellen. Verf. kann sich nicht entschließen, die Bildung der Hülle um das Sporenlager, die auch bei Sorisporium vorkommt und bei anderen Gattungen auftreten oder fehlen kann, als Gattungsmerkmal gelten zu lassen. — Ein Gymnosporangium sp. entwickelt die Spermogonien auf den Blättern von Pirus amygdaliformis Vill. — Das Coleosporium auf den dicht filzig behaarten örtlichen Inula-Arten repräsentiert eine eigene Art oder Rasse. — Mycosphaerella Aronici (Fckl.) Volkart ist im Orient auf Doronicum caucasicum weit verbreitet. Ende Mai sind dort bereits die Konidien abgefallen und weggeführt, die Pyknidien sind bereits schön entwickelt; in den Alpen sieht man noch im August Konidienträger, das Fusicladium Aronici (Fckl.) Sacc.

Verf. vertritt den Standpunkt, daß nur dann eine Trennung einer „Art" in verschiedene biologische Arten erfolgen soll, wenn genaue Kulturversuche vorgenommen werden; deshalb trennt er den Uromyces auf Hymenocarpus und auf Physanthillis nicht in verschiedene Arten, trotzdem er glaubt, daß es nicht gelingen wird, den Uromyces von der einen Wirtspflanze auf die andere zu überimpfen.

Matouschek (Wien.)

Rostrup, E., Lieutenant Olufen's second Pamir expedition. Plants collected in Asia media and Persia by Ore Paulsen. V. Fungi. (Journ. de Botanique publié par la société botanique de Copenhague. T. XXVIII. 1907. Fasc. 2.)

Als neu werden außer anderen hier nicht zu erwähnenden Pilzen folgende Pilze beschrieben: Aecidium tataricum (in foliis Ixiolirionis tatarici Schult.; Bami in Transcaspia); Septoria Stellerae (in ramis Stellerae Lessertii [Wickst.] ad Giaur-Kala). Von vielen, auch parastischen Arten werden die Substrate bezw. Wirtspflanzen genau angegeben. Matouschek (Wien).

Kern, D., Parasitic plant diseases reported for Indiana. (Proceedings of the Indiana acad. of science 1906. Indianapolis 1907. p. 129—133.)

—, Notes on the occurrence of Sclerotinia fructigena. (Ibidem. p. 134—136. Mit 1 Textfigur.)

Eine Liste von in den letzten Jahren aufgetretenen Schädlingen aus der Gruppe der Pilze. Der Wirt wird genau angegeben, ebenso die Krankheit, die der Pilz hervorbringt. Abgebildet wird Sclerotinia fructigena. Matouschek (Wien).

Sydow, H. et **P.,** et **Butler, E. J.,** Fungi Indiae orientalis, Pars II. (Annales mycologici. Vol. V. 1907. p. 483—515.)

Beschreibung der von Butler in Ostindien gesammelten Ustilagineen, Uredineen und Phycomycetes; viele sind von Interesse wegen ihrer geographischen Verbreitung; folgende neue Arten werden aufgestellt:

Ustilago Inagati auf Iseilema laxum, Ust. Rotboelliae auf R. compressa, Sphacelotheca Fagopyri auf Fagopyrum esculentum, Sorosporium flagellatum auf Ischaemum timorense, Graphiola Borassi auf Borassus flabellifer; Uromyces orientalis auf Indigofera linifolia, U. decoratus auf Crotalaria juncea; U. achrous auf Dalbergia Sissoo, U. Andropogonis annulati auf Andropogon annulatum, U. Eriochloae auf Eriochloa polystachya, U. Inagati auf

Apluda aristata, U. Apludae ebenda, Puccinia Inagati auf Launea nudicaulis, P. expallens auf Hypoxis aurea, P. Cipurae auf Cipura paludosa, P. xanthopoda auf Seleria sp., P. flavipes auf Fimbristylis miliacea, P. invenusta auf Phragmites Karka, P. Oryzopsidis auf O. molinoides, P. propingua auf Andropogon sp., P. Arthraxonis auf Arthraxon lanceolatum, P. melanocephala auf Arundinaria sp., Diorchidium orientale auf Panicum prostratum, D. laevigatum auf Oplismenus compositus, Phragmidium orientale auf Rubus ellipticus, Ph. Butleri auf Rosa macrophylla, Ravenelia Breyniae auf Breynia rhamnoides, Chrysomyxa Dietelii auf Rhododendron arboreum, Pucciniastrum Celastri auf C. paniculata, G. Gaultheriae auf G. nummularioides, Aecidium Ajugae auf Ajuga sp., Ae. Scutellariae auf Sc. angulosa, Ae. Aechmantherae auf A. tomentosa, Ae. Lepidagathis auf L. hyalina, Ae. Stranvaesiae auf St. glaucescens, Ae. Osmanthi auf O. fragrans, Ae. phyllanthinum auf Ph. reticulatus, Ae. Bregniae auf B. rhamnoides, Ae. luculentum auf Loranthus longiflorus, Ae. patulum auf Crataegus coccinea, Ae. Mori auf Morus sp., Uredo Sissoo auf Dalbergia Sissoo, Uredo Viaticae auf Viatica conifolia, U. assamensis auf Floscopa scandens, U. Lipocarphae auf L. sphacelata, U. operta auf Coix Lacrymae, U. Ischaemi auf I. timorense, Synchytrium Rytzii auf Anisomelis ovata, S. collapsum auf Clerodendron sp. Neger (Tharandt).

Raciborski, M., Ueber die javanischen Hypocreaceen und Scolecosporeen. (Bulletin intern. de l'acad. scienc. de Cracovie. 1907. p. 901 ff. Cracovie 1908.)

Eine Anzahl neuer Arten wird genau beschrieben: Epichloe Kyllingiae (auf Stengeln der Kyllingia monocephala), Balansia gigas (in den Sproßspitzen des Paspalum sp.), Ustilaginoidea bogoriensis (in der Rispe der Hymenachne indica), Hypocrella globosa (auf der Oberseite der Blätter der Castilloa elastica), Hypocrella convexa (auf Schildläusen von Blättern der Garcinia und Myristica), Barya montana (auf Spinnen auf den Zweigen von Podocarpus cupressina), Barya salaccensis (auf Blattläusen auf der Blattunterseite von Castanea argentea und Lasianthus sp.), Ophionectria (?) anomala (epiphytisch auf der Blattunterseite von Hydnophyllum). — Verf. gibt auch ergänzende Diagnosen und kritische Notizen und sehr gute Habitusbilder.

Matouschek (Wien).

Koorders, S. H., Botanische Untersuchungen über einige in Java vorkommende Pilze, besonders über Blätter bewohnende, parasitisch auftretende Arten. (Verhandlungen der koninklijke Akademie van Wetenschappen te Amsterdam. Tweede Sectie. Deel XIII. Nov. 1907. No. 4. 264 pp. 12 Taf. 61 Textfigg.)

Die Kautschukanpflanzungen auf der Insel Java werden von zahlreichen Pilzen heimgesucht, die sich teils auf den lebenden Teilen der Kautschukpflanzen entwickeln, teilweise auch erst saprophytisch auf abgestorbenen Partieen auftreten. Einer der häufigsten Pilze ist das Colletotrichum Ficus Koord., welches zuweilen eine vorzeitige Entblätterung verursacht, jedoch kaum in dem Maße auftritt, daß dadurch

die Bäume zum Absterben gebracht werden. Gleichfalls recht häufig ist auch Gloeosporium Elasticae Cke. et Massee. Beide unterscheiden sich nur durch das Fehlen resp. Vorhandensein der Borsten auf den Pilzlagern; sie finden sich oft auf denselben Blättern untermischt vor und könnten ebensogut als Formen einer Species betrachtet werden. Mit beiden Pilzen hat Verf. Infektionsversuche vorgenommen und Reinkulturen aus Konidien hergestellt. Es gelang, die Pilze auf lebende Ficus-Blätter zu übertragen. Ferner glückte es, die zugehörige Ascusform aufzufinden, welche sich im Gegensatz zu den Konidienpilzen ausgesprochen saprophytisch auf faulenden Blättern und Zweigen entwickelt. Der Pilz wird als Vertreter einer eigenen Gattung (Neozimmermannia) angesehen. Auch mit Ascosporen wurden Infektionsversuche angestellt, welche erfolgreich ausfielen. Bei den Kulturversuchen konnte festgestellt werden, daß der Pilz außerdem noch zwei verschiedene Chlamydosporenformen bildet. Von Viala und Pacottet wird, wie bekannt, angegeben, daß Manginia ampelina und Gnomonia veneta sporulierende Hefen bilden können. Verf. untersuchte hieraufhin auch die Neozimmermannia, die den eben genannten Arten verwandtschaftlich nahe steht, konnte jedoch in keinem Falle die Entstehung sporulierender Hefen bemerken. (Man wird daher gut tun, die diesbezüglichen Angaben von Viala und Pacottet mit Vorbehalt aufzunehmen, um so mehr, da auch von anderer Seite eine Bestätigung derselben bisher nicht möglich war.)

Außer dem oben genannten Colletotrichum Ficus kommt in Java auf Kautschukblättern noch eine zweite Art derselben Gattung vor, nämlich C. Elasticae Tassi (= C. Elasticae Zimmerm.). Dieser Pilz entwickelt sich jedoch anscheinend meist nur saprophytisch; nur in den für Ficus ungünstigen Kulturbedingungen konnte derselbe als Parasit nachgewiesen werden. Infektionsversuche mit diesem Pilze gelangen ebenfalls.

Weiter beschreibt Verf. eine auf Ficus-Blättern auftretende neue Diplodia. Aus den Kulturversuchen mit diesem Pilze geht hervor, daß derselbe als Saprophyt anzusehen ist, da von ihm nur solche Teile der Nährpflanze befallen werden, welche durch irgend eine Ursache zum Absterben gebracht wurden.

Im letzten Abschnitte der umfangreichen Arbeit teilt Verf. die Beschreibungen zahlreicher neuer javanischer Pilze mit, hauptsächlich von solchen, die auf Blättern auftreten. Die hier beschriebenen Arten kommen in erster Linie auf Ficus Elastica vor, z. B. Karschia Elasticae und Tryblidium Elasticae auf Rinde lebender Stämme anscheinend wenig schädlich, Septogloeum elasticae, Fusicladium Elasticae, Clasterosporium javanicum, Napicladium Elasticae etc. auf lebenden Ficus-Blättern. H. Sydow (Schöneberg-Berlin).

Sydow, H. et P., Verzeichnis der von Herrn F. Noack in Brasilien gesammelten Pilze. (Annales mycologici. Vol. V. 1907. p. 348—363.)

Nur folgende parasitische Pilze interessieren uns hier: Puccinia Noacki Syd. n. sp. (in foliis Eupatorii sp.). — Uredo flavidula Wint. scheint die Uredoform der Puccinia Jambosae zu sein (auf Blättern und Früchten von Jambosa vulgaris). — Aecidium Xylopiae P. Henn. verursacht auf Xylopia sp. mächtige Hexenbesen bis zu 3/4 m Länge. — Uredo Cordiae P. Henn. erzeugt auf Blättern und

jungen Zweigen von Cordia sp. eigentümliche Deformationen. — Uredo Ingae P. Henn. tritt auf den Blättern der Wirtspflanze Inga sp. nur in kleineren rundlichen Lagern auf; auf den Stengeln und Blattstielen aber bildet er bis über 1 dm lange Lager unter gleichzeitiger Anschwellung und mannigfacher Verkrümmung derselben. — Uredo Reissekiae Syd. n. sp. tritt auf den Blättern von Reissekia cordifolia auf. — Nectria (Eunectria) Noackiana Syd. n. sp. auf der Rinde einer Liane. — Peloronectria umbilicata Syd. n. sp. auf Zweigen von Eugenia sp. — Hypocrella globosa Syd. n. sp. auf Blättern und Zweigen einer Melastomatacee. — Leptothyrium exiguum Syd. n. sp. auf Blättern einer Myrtacee. Die vom Pilze befallenen Blätter machen äußerlich den Eindruck, als ob sie von einer Erysiphee befallen wären, da sie wie von einem weißen, an das Konidienstadium der Erysipheen erinnernden Mycel überzogen erscheinen. Der weißliche Ueberzug ist aber nur eine Ausscheidung der Blattsubstanz, die vom Pilze bedingt wird. Die anderen häufigeren oder schon genügend bekannten parasitischen Pilze werden hier übergangen. Das Material wurde 1896/98 in den Provinzen Minas Geraes und Sao Paulo gesammelt.

Matouschek (Wien).

Gassner, Estudio sobre los hongos de la República O. del Uruguay especialmente de los parásitos. [Studien über die parasitischen Pilze von Uruguay.] (Rev. de la Sec. Agr. d. l. Univ. de Montevideo. 1907.)

Die Pilzkrankheiten sind in Uruguay bisher wenig bearbeitet; so glaubte man z. B., daß die Kräuselkrankheit der Pfirsiche durch die heftigen Temperaturschwankungen hervorgerufen würde. Verf. wies überall Exoascus deformans nach. Von den in Uruguay vorkommenden Brandpilzen erwähnt Verf. Ust. Jensenii, Ust. hordei, Ust. tritici, hauptsächlich auf einheimischen Weizensorten, Ust. Maydis, Ust. bromivora. Auf Euchlaena mexicana traten im botanischen Garten von Montevideo Brandbeulen auf, die von Ust. Euchlaenae Arcangeli hervorgerufen wurden. Verf. spricht die Vermutung aus, daß dieser Brandpilz mit Ust. Maydis identisch ist; Infektionsversuche, die in dieser Richtung angestellt wurden, sind noch nicht abgeschlossen. Uromyces Betae trat auf den 10 angebauten Beta-Sorten überall auf; der Befall der einzelnen Sorten war auffallend verschieden. Puccinia Triticina trat sehr häufig auf. Während nach Klebahn in Breiten unter 40° nur Uredosporen gebildet werden, gelang es dem Verf. (in Breiten von 30—35°) im Sommer und Winter auch Teleutosporen zu finden. Verf. glaubt daher, daß der Einfluß der Temperatur auf die Teleutosporenbildung von Puccinia Triticina nur gering ist. Von anderen Rostarten erwähnt Verf. noch Puccinia Coronifera, Puccinia Maydis, Puccinia Poarum und Puccinia Malvacearum. Versuche über das Verhalten verschiedener Maisvarietäten gegenüber Puccinia Maydis zeigten, daß die schnell reifenden Sorten am leichtesten erkranken; doch sind diese Versuche nur einmal gemacht und bedürfen wohl noch einer Nachprüfung. Riehm (Steglitz).

Sorauer, Paul, Handbuch der Pflanzenkrankheiten. 3. Aufl. Bd. I. Lief. 17. Bog. 44—48. Berlin (P. Parey) 1908. 3 M.

In der vorliegenden Lieferung führt Sorauer zunächst die Beschreibung enzymatischer Krankheiten, die zum Teil durch gute Abbildungen im Text veranschaulicht sind, zu Ende. Besprochen sind: die

Kobbsche Zuckerrohrkrankheit, Peach yellow, eine Pfirsichkrankheit, Gummifluß der Kirschen und anderer Gewächse, die Dintenkrankheit der echten Kastanie, Gummose der Feigenbäume, Manna- und Harzfluß und schließlich Harzbildung bei dikotylen Gewächsen.

Der sich anschließende 4. Abschnitt behandelt den Einfluß schädlicher Gase und Flüssigkeiten und hat in der neuen Auflage eine erweiterte und detailliertere Ausgestaltung in Text und Abbildungen erfahren. Im 16. Kapitel werden die Rauchgase, Säuren, Ammoniak, Teer- und Asphaltdämpfe usw., im 17. Kapitel feste Auswurfsstoffe der Schornsteine und mitgeführte Destillate, wie Sodastaub, metallische Bestandteile des Hüttenrauches, Schwefelwasserstoff (als Reduktionserscheinung aus Flugascheeinlagerungen), Leuchtgas und Acetylen (aus Leitungssträngen im Boden) besprochen.

Das folgende, neu aufgenommene Kapitel über Abwässer beschäftigt sich mit den am häufigsten vorkommenden Schädigungen, hervorgerufen durch zu hohen Kochsalzgehalt, wie man diesen auf Rieselfeldern und besonders in Gegenden, wo Kohlenförderung stattfindet, also bei Grubenwässern, begegnet, Gehalt an Chlorkalium und Magnesium und Schwermetallsalzen.

Schädliche Wirkungen infolge Verwendung von Kulturhilfsmitteln (Anstreichmittel, wie Teer, Bleiweiß, Terpentinöl usw.) werden im 19. Kapitel geschildert. Daran schließen sich Beschädigungen durch unrichtige Zusammensetzung, Konzentration und ungeeignete Anwendung der im Pflanzenschutz verwendeten Bekämpfungsmittel, Düngemittel und Anästhetika der Aethertreiberei.

Im nächsten Abschnitt über Wunden beginnt S. mit der Besprechung der Verwundungen des Achsenorgans. Schaffnit (Bromberg).

Schander, R., Bericht über das Auftreten von Krankheiten und tierischen Schädlingen an den Kulturpflanzen in den Provinzen Posen und Westpreußen für das Jahr 1907. (Mitteil. a. d. Kaiser Wilhelms-Institut für Landwirtschaft in Bromberg. Bd. I. 1908. Heft 1. p. 5.)

Das erste Heft der „Mitteilungen des Kaiser Wilhelms-Institutes für Landwirtschaft in Bromberg“ enthält eine von der Abteilung für Pflanzenkrankheiten des Institutes ausgearbeitete Uebersicht über die im Jahre 1908 in den Provinzen Posen und Westpreußen aufgetretenen Pflanzenkrankheiten. Die genannte Abteilung wird durch Sammelstellen, die über das ganze Beobachtungsgebiet verteilt sind, und durch direkte Einsendungen seitens praktischer Landwirte über das Auftreten von Krankheiten und Schädlingen orientiert. Es läßt sich auf diese Weise natürlich kein einwandfreies, aber doch immerhin ein ungefähres Bild davon gewinnen, welche Schädigungen an Kulturpflanzen den Landwirten am meisten Schaden getan haben, und von welchem Erfolge Bekämpfungsversuche begleitet waren.

Der Bericht meldet von Krankheiten und Schädlingen der Getreidesorten, Hackfrüchte, Futterpflanzen, Obstbäume, Garten- und Forstgehölze.

Einen breiten Raum nimmt der Bericht über das Auswintern von Getreide in dem strengen Winter 1906/07 ein. Wir ersehen daraus, daß besonders der Weizen, weniger der Roggen zu leiden hatte. Frostperioden, die unmittelbar nach Tauwetter eintraten, wurden in ihrer schädigenden Wirkung im Osten durch nördliche und östliche Winde verstärkt. Besonders schwer von Auswinterungsschäden betroffen wurden

nur wenige Kreise. Zum Teil wurde der durch die Barfröste hervorgerufene Schaden durch die Feuchtigkeit des Sommers 1907 wieder etwas gemindert. Als durchaus winterfest erwiesen sich die alten Landsorten, ferner Löhmer, Nordstrand, Frankensteiner, Litewka, Coströmer Weizen. Criewener No. 104 und Eppweizen können als unbedingt winterfest für den Osten nicht gelten. (In dem sehr kalten Winter 1901 ist auf dem Versuchsgute Pentkowo auch der Frankensteiner Weizen ausgewintert. D. Ref.) Von besonderem Einfluß auf die Winterfestigkeit des Getreides ist die Art der Bestellung und die Vorbereitung des Bodens. Lockerer Boden ist mehr der Einwirkung des Frostes ausgesetzt, als fester, weshalb Walzen zu empfehlen ist. Es hat sich im allgemeinen ergeben, daß der Barfrost im Januar und Februar das Getreide auf leichtem Boden stärker schädigte als auf schwerem, während umgekehrt der Frühjahrsfrost den humosen und den schweren Böden mehr Schaden brachte als den leichten.

Auch unter Lager hatte das Getreide im Beobachtungsgebiete vielfach zu leiden, und zwar hatten die fruchtbaren Böden am meisten Schaden gelitten. Oft war eine zu hohe Stickstoffdüngung die Ursache des Lagerns, nicht selten trug die Vorfrucht die Schuld. So lagerte ganz allgemein der Weizen nach Klee sehr stark.

Eine weitere Schädigung brachte dem Getreide Hagelwetter. Weißährigkeit, die sich besonders bei Roggen bemerkbar machte, war häufig darauf zurückzuführen.

Gering war im allgemeinen der Schaden, den pflanzliche Parasiten dem Getreide zufügten; wo derartige Schädigungen mit größerer Intensität auftraten, blieben sie meist lokalisiert. Meldungen über Beobachtungen von Brandkrankheiten und Rost waren nicht zahlreich. Auf dem Versuchsfelde der Abteilung wurde mit Versuchen über den Einfluß der Düngung auf die Widerstandsfähigkeit gegen Rost begonnen. Meltau zeigte sich vielfach an der Winterung, selten an der Sommerung. Weit verbreitet war der Roggenhalmbrecher; er gehört zu den Schädigern, die der Landwirt meist nicht beachtet oder nicht kennt und die doch recht häufig vorkommen. Ebenso steht es mit dem Weizenhalmtöter. Die Gerste war vielfach mit der Streifenkrankheit behaftet, der vom Verf. eine hohe wirtschaftliche Bedeutung beigemessen wird. Kupferbeizung hat sich als Bekämpfungsmittel gut bewährt. Mutterkorn, sowie auch Schwärzepilze waren verbreitet. Unter den Ackerunkräutern machte der Hederich am meisten Not.

Von den tierischen Schädlingen der Kulturgewächse wurde besonders Limothrips cerealium Haliday bemerkt. Auf dem Versuchsfelde der Abteilung war das ganze Getreide von ihm befallen. Auch die Zwergzikade trat häufig auf. Außer dem Klee, dem bekannten Förderer der Mäuse, hat sich auch die Seradella oft als Mäusepflanze erwiesen. Zur Bekämpfung der Mäuseplage wird ausschließlich der Löfflersche Bacillus empfohlen.

Was die Hackfrüchte betrifft, so war bei den Rüben in geringem Maße der Wurzelbrand verbreitet, während alle anderen Krankheiten bei ihnen ganz zurücktraten. Die Kartoffeln litten sehr unter der Krautfäule; es zeigten sich jedoch die verschiedenen Sorten je nach den Bodenverhältnissen verschieden anfällig. Schwarzbeinigkeit trat in geringerem Umfange als im Jahre 1906 auf. Ueber die Verbreitung der Bakterienringkrankheit und der Blattrollkrankheit ließ sich ein Ueberblick nicht gewinnen.

Von den Futterpflanzen wurde Klee häufig durch Krebs, Kohl durch Kropf geschädigt.

An Obstbäumen zeigte sich überall im Beobachtungsgebiet die Schorfkrankheit und befiel besonders die Birnen, während die Aepfel in großer Verbreitung unter Krebs zu leiden hatten. Auch Blutlausschaden wurde gemeldet. Der Bericht enthält beachtenswerte Maßnahmen, welche die Abteilung den Behörden zur erfolgreichen Bekämpfung der Blutlausplage vorschlägt. Von sonstigen Obstschädigern machte sich in großem Umfange noch der amerikanische Stachelbeermeltau bemerkbar, Dieser Pilz scheint geeignet, den weiteren Anbau der Stachelbeere, besonders in Posen, in Frage zu stellen.

Berichte aus Gärtnereien melden von der Rotzkrankheit der Hyazinthenzwiebeln, von der besonders die holländischen frühen Züchtungen befallen waren.

In den Weichselgebieten trat oft in bedrohlichem Umfange Seide auf Weiden auf.

Der 122 Seiten umfassende Bericht ist reichlich mit Tabellen ausgestattet und enthält Karten zur Orientierung über die Hagelschädigungen und das Auftreten der Feldmaus. Angefügt sind graphische Darstellungen der mittleren Schneehöhen und Tagestemperaturen im Winter, der höchsten und niedrigsten Tagestemperaturen im Frühjahr und der mittleren Tagestemperaturen und Niederschlagsmengen im Sommer des Berichtsjahres für das Beobachtungsgebiet. Außerdem befinden sich am Schluß des Heftes farbige Tafeln mit Abbildungen von Pflanzen, die mit den verschiedenen Rostkrankheiten befallen sind. Zeller (Bromberg).

Lasnier, E., Recherches biologiques sur deux Gloeosporium. (Bulletin de la Société mycologique de France. 1908. Mit 3 Taf.)

Verf. studiert zwei Gloeosporium-Species, 1) Gloeosporium Cattleyae, welches sich im Innern der absterbenden Orchideenblätter entwickelt, und 2) Gloeosporium Musarum, welches auf Bananen lebt.

Diese beiden Species liefern auf künstlichen Nährmedien Fruktifikationsformen, die in natürlichem Zustande unbekannt sind. Einige dieser Fruktifikationsformen nähern sich denen gewisser Sphäroideen, andere denen gewisser Hyphomycetenformen.

Die Konidien, welche der Form der Melanconieen oder der Sphäroideen angehören, besitzen nicht besondere Eigenschaften, durch welche sie voneinander unterschieden werden können.

Die Sterigmen dagegen zeigen besondere Eigenschaften für jede der Fruktifikationsformen; bei der Hyphomycetenform haben sie das Aussehen von Bäumchen; bei der Melanconieenform sind die Bäumchen sehr klein und die Zweige sehr kurz; bei der Sphäroideenform endlich sind die Sterigmen nicht mehr verzweigt.

Das auf zuckerhaltigen Medien kultivierte Mycelium besitzt eine besondere Struktur infolge des Vorhandenseins einer großen Anzahl regelmäßig angeordneter, kugelförmiger und strahlenbrechender Tröpfchen. Die Anwesenheit von Zucker unterstützt die Sporenbildung.

Das reichliche Auftreten von Scheidewänden im Mycel und sein Zerfall in kurze Glieder vollzieht sich in nicht zuckerhaltigen Medien.

Die Größenverhältnisse und die Form der Sterigmen und Sporen sind sehr verschieden und hängen im wesentlichen von der chemischen Zusammensetzung der Medien ab.

Die Sporen keimen, indem sie mycelartige Fäden produzieren, welche sekundäre Konidien oder Chlamydosporen entstehen lassen.

Alkalien in einer Dosis von 2 Proz. haben keinen ungünstigen Einfluß auf das Wachstum dieser Pilze. Säuren in schwacher Dosis verzögern die Keimung der Sporen, in stärkerer Dosis hemmen sie sie vollkommen.

Bei keiner Gelegenheit hat Verf. Umwandlungen in Hefeformen beobachtet, wie es Viala und Paccottet bei Gl. ampelophagum und nervisequum gesehen haben. Guilliermond (Lyon).

Arthur, Joseph Charles, New species of Uredineae. VI. (Bulletin of the Torrey Botanical Club. Vol. XXXIV. 1907. p. 583—592.)

Enthält die Beschreibungen folgender neuen Uredineen aus Zentral- und Nordamerika:

Puccinea cinerea auf verschiedenen Poa-Arten.
Pucc. perminuta auf Agrostis hyemalis und A. perennans.
Pucc. praegracilis auf Agrostis Thuberiana.
Pucc. Chaetochloae auf Chaetochloa macrosperma.
Pucc. panicicola auf Panicum-Arten.
Pucc. quadriporula auf Carex-Arten.
Pucc. minutissima auf Carex filiformis.
Prospodium bahamense auf Tecoma bahamensis.
Calliospora Petalostemonis auf Petalostemon oligophyllus.
Aecidium Petalostemonis auf Petalostemon-Arten.
Aec. fluxum auf Amorpha canescens.
Aec. Boehmeriae auf Boehmeria cylindrica.
Caeoma occidentale auf Pseudotsuga mucronata.
Uredo Grayiae auf Grayia spinosa.
U. inquirenda auf einer unbekannten Nährpflanze.

H. Sydow (Schöneberg-Berlin).

Dietel, P., Einige neue Uredineen aus Südamerika. II. (Annales Mycologici. Vol. VI. 1908. p. 94—98.)

Verf. beschreibt folgende neue Uredineen:

Uromyces Solariae auf Blättern von Solaria miersioides in Chile.
Urom. Reichei auf Blättern von Triteleia Gaudichaudiana in Chile.
Urom. vestitus auf Blättern von Sapium spec. in Brasilien.
Urom. Lucumae auf Blättern und Früchten von Lucuma spec. in Brasilien.
Urom. Wulffiae stenoglossae auf Blättern von Wulffia stenoglossa in Brasilien.
Urom. Usterianus auf Blättern einer Myrtacee in Brasilien.
Puccinia paraënsis auf Blättern von Gouania pyrifolia in Brasilien.
Pucc. Gesneracearum auf Blättern einer Gesneracee in Brasilien.
Ravenelia Bakeriana auf Blättern von Lonchocarpus in Brasilien.
Rav. microspora auf Blättern von Cassia spec. in Brasilien.
Aecidium Posoqueriae auf Blättern von Posoqueria latifolia in Brasilien.

H. Sydow (Schöneberg-Berlin).

Evans, J. B. Pole, The cereal rusts. I. The development of their Uredo mycelia. (Ann. of botany. Vol. XXI. 1907. p. 441—466. With 4 pl.)

Die Entwickelung der Getreiderostpilze von der Uredospore bis zur Bildung neuer Sporen wird genau anatomisch untersucht. Im ersten Teile werden die ersten Stadien der Entwickelung beschrieben, die späteren Stadien werden in Fortsetzungen publiziert. Als Fixierungsmittel zum Eindringen in die Blätter empfiehlt der Verf. eine mit Pikrinsäure gesättigte Mischung von 30 ccm Formol, 20 ccm Wasser und 5 ccm Essigsäure. — Das allgemeine Bild ist folgendes: Der Sporenkeimschlauch bildet über der Spaltöffnung ein Appressorium, dann dringt ein Faden durch den Spalt und bildet unter den Schließzellen eine „substomatäre Blase". Daraus entspringt die „infizierende Hyphe" und diese treibt bald Haustorien in die Zellen. Unterschiede finden sich natürlich. Auf diese hier einzugehen, ist nicht der Ort. Matouschek (Wien).

Dietel, Paul, Ueber die morphologische Bewertung der gleichnamigen Sporenformen in verschiedenen Gattungen der Uredineen. (Hedwigia. Bd. XLVIII. 1908. p. 118—125.)

Es wird die Frage erörtert: Ging bei der Weiterentwickelung älterer Uredineenformen zu jüngeren immer eine bestimmte Sporenform (z. B. Uredo) aus der gleichnamigen Form der älteren Stammgattung hervor, oder gibt es auch Fälle, die auf ein gegenteiliges Verhalten hinweisen?

Der Verf. erwägt folgendes: 1) Die Amphisporen von Puccinia können nicht von denen einer anderen Gattung abgeleitet werden, sie sind aus den typischen Uredosporen hervorgegangen. Bei Coleosporium, Chrysomyxa und Stichopsora steht der Fall so: Die Uredosporen werden reihenweise abgeschnürt und ihre Membran weist die sogenannte Stäbchenstruktur auf, die für die auf Koniferen gebildeten Aecidiosporen derselben Gattungen und anderer auf Koniferen lebender Aecidien charakteristisch ist. Es sind also jene Uredoformen periodenlose Wiederholungen der Aecidien, sie sind sonach nur vom biologischen, nicht aber auch vom morphologischen Standpunkte aus den Uredo anderer Gattungen gleichwertig. 2) P. Magnus fand bei verschiedenen Uromycesarten auf Euphorbia Mittelformen zwischen den Uromyces- und Uredosporen und faßte sie als Uebergangsformen der Bildung der Uredosporen aus den Uromycessporen auf, so daß die Uredosporen sich aus den Teleutosporen von Uromyces herausgebildet haben. Nach Verf. hat man es aber mit Rückschlagsbildungen zu tun und überdies wäre das Hinzukommen einer neuen Sporenform auf Nährpflanzen mit so kurzlebigem Laube (wie z. B. Ranunculus Ficaria) von vornherein eine verfehlte Einrichtung. 3) Bezüglich des Genus Endophyllum glaubt man vielfach, daß es sich um einen Uebergang der Promycelbildung auf die Aecidiosporen hier handelt. Es sind aber außereuropäische Gattungen bekannt geworden (Alveolaria, Masseeella), denen keine Peridie zugesprochen werden kann. Dietelia unterscheidet sich von Endophyllum durch zu kugeligen Massen miteinander verklebte Teleutosporen. Vollkommen frei werden die Sporen bei Pucciniosira, welche Gattung nur durch die Zweizelligkeit ihrer Sporen sich von Endophyllum unterscheidet. An diesen Formenkreis kann man daher ohne Zwang die zuletzt genannte Gattung anschließen.

Es gibt aber Fälle, wo es sich (nach Ansicht des Verf.) um Entstehung von neuen Sporenformen aus solchen handelt, die ihnen morphologisch nicht gleichwertig sind, z. B. Phragmidium. Man muß für diese Gattung annehmen, daß entweder die Aecidiumform aus der Uredo entstanden ist dadurch, daß in der ersten Jahresgeneration jede Hyphe statt einer Spore deren eine ganze Reihe abschnürt oder die Uredo hat sich aus der Aecidiumform heraus durch eine Reduktion der Sporenbildung entwickelt. Welcher dieser Wege eingeschlagen wurde, kann nicht ermittelt werden. — Als zweiter Fall der Entstehung einer Sporenform aus einer ihr morphologisch nicht gleichwertigen kann man die Entstehung der Pucciniaceen aus den Melampsoraceen betrachten. Wie Verf. in dieser Zeitschrift, Abt. II. Bd. XII. p. 218 ff. nachwies, stellen die Melampsoraceen und die Pucciniaceen zwei Gattungsreihen dar, die nicht nebeneinander entstanden sind, sondern es schließen sich die Pucciniaceen als die jüngere Reihe an die Melampsoraceen an. Das völlige Fehlen der Pucciniaceen auf Abietineen ist dadurch zu erklären, daß sie erst in einer Zeit auftraten, in der bereits die Angiospermen sich entwickelten. Bei Melampsora paradoxa (auf Salix

in Colorado) treten freie Teleutosporen auf, die zumeist einzellig sind und in Uredolagern gefunden wurden, in denen die Uredobildung dem Ende zuneigte. Wie kann man sich diese Sporenform entstanden denken? Sie machte sicher die bisherige Teleutosporengeneration überflüssig und den Ausgangspunkt einer solchen Neubildung mögen wohl die Paraphysen gebildet haben, die in den Uredolagern aller Melampsoren reichlich auftreten: die Paraphysen haben die Gestalt eines gestielten Köpfchens, das spärlichen Plasmainhalt hat. Denkt man sich letzteren vermehrt und die Zellwand verdickt, so kann es schließlich zur Bildung einer neuen Sporenform kommen. Diese Teleutosporen sind daher wohl aus Paraphysen entstanden und nicht aus einer anderen Teleutosporenform. Die Bekanntgabe weiterer Tatsachen wäre behufs Aufklärung solcher Fälle sicher erwünscht. Matouschek (Wien).

Freeman, E. M. und **Umberger, H. J. C.**, The smuts of sorghum. (U. S. Dept. of Agric. Bureau of Plant Industry Circular No. 8. 1908.)

Verff. haben sich mit einer der gefährlichsten Krankheiten der Sorghum-Hirse, dem Brand, befaßt, und teilen ihre Untersuchungen kurz mit. In den Vereinigten Staaten kommen hauptsächlich zwei Arten von Brandkrankheiten vor. Die eine befällt nur die Samen (grain or kernel smut), und wird von Sphacelotheca sorghi (Link) Clinton, die andere, welche die ganze Vegetationsspitze befällt (head smut), von Sphacelotheca reiliana (Kühn) Clinton verursacht. S. sorghi ist weit verbreitet und verursacht beträchtliche Schäden; S. reiliana tritt verhältnismäßig selten auf, nur in Texas ist sie verheerend vorgekommen.

Während der Verlauf der ersteren Krankheit genau bekannt ist, weiß man von der Entwickelungsgeschichte von S. reiliana noch wenig; so viel ist aber sicher, daß die Formalin- und Heißwasserbeizung der Samen, die ein gutes Vorbeugemittel gegen den sogenannten Grain smut abgibt, wirkungslos gegen den Head smut ist. Nur die Verwendung von gesunder Saat kann den Head smut verhüten. Zur Vermeidung und Bekämpfung der Brandkrankheiten der Sorghum-Hirse sind folgende Punkte zu beachten:

1) Verwendung von nur solcher Saat, die von gesunden Pflanzen stammt;

2) Benutzung nur von eigenem Saatgut;

3) Beizung des Saatguts mit Formalin oder heißem Wasser, wenn es nicht ganz einwandsfrei ist;

4) Vermeidung von verseuchten Pflanzungen;

5) Verwendung von Maschinen, die nicht mit Brandsporen infiziert sind;

6) Die „Milo"-Varietät ist bis jetzt von Brand nicht befallen worden und scheint immun zu sein. v. Faber (Berlin).

Fischer, Ed., De la biologie du genre Gymnosporangium. (Société helvétique des Sciences naturelles réunie à Fribourg les 29, 30 et 31 juillet 1907. Archives des Sciences phys. et nat. T. XXIV. 1907. Novembre.)

Für die Schweiz waren bisher 5 Gymnosporangium-Arten nachgewiesen.

A. Arten, welche ihre Teleutosporen auf Juniperus Sabina bilden:

1) Gymnosporangium Sabinae (Dicks) Wint. mit Aecidien auf Pirus communis;

2) G. confusum Plowright, dessen Aecidien auf Crataegus, Cydonia, Mespilus und hie und da auch auf Pirus communis gebildet werden.

Auf Cotoneaster kommt ein morphologisch übereinstimmendes Aecidium vor; doch haben frühere Infektionsversuche des Verf. dargetan, daß dasselbe vom typischen G. confusum verschieden ist.

B. Arten, welche ihre Teleutosporen auf Juniperus communis bilden:

3) G. clavariaeforme (Jacq.) Rees. dessen Aecidien in der Schweiz bis jetzt auf verschiedenen Crataegus-Arten, sowie auf Cotoneaster vulgaris gefunden wurden.

4) G. tremelloides R. Hartig bildet Aecidien auf Sorbus Aria. Uebereinstimmende Aecidien finden sich ferner auf Sorbus Chamaemespilus und Pirus Malus. Ob diejenigen auf Sorbus Aria und auf Pirus Malus als identisch betrachtet werden können, erscheint dem Verf. fraglich.

5) G. juniperinum (L.) Fr. hat Sorbus Aucuparia als Hauptäcidienwirt. In der Felsenheide am Bielersee fand sich ein Aecidium auf Amelanchier vulgaris und nicht weit davon auch infizierter Juniperus communis. Nach einem Vorversuche im Jahre 1906 wurde im Frühjahr 1907 mit den Teleutosporen von J. communis vom erwähnten Standort ein Infektionsversuch durchgeführt; dabei ergab nur Amelanchier vulgaris einen positiven Erfolg, während A. Botryapium, Sorbus Aria, S. torminalis, S. hybrida und S. Aucuparia pilzfrei blieben.

Demnach ist das Aecidium auf Amelanchier mit demjenigen auf Sorbus Aucuparia nicht identisch; wir haben es hier mit zwei biologisch verschiedenen Gymnosporangien zu tun, deren Teleutosporen zudem auch kleine morphologische Unterschiede aufweisen.

Schneider-Orelli (Wädenswil).

Yamada, Gentaro, und **Miyake, Ichiro,** Eine neue Gymnosporangium-Art. (The botanical Magazine, Tokyo. Vol. XXII. 1908. No. 253. p. 21—28. Mit 9 Textfig.) [In deutscher Sprache.]

An verschiedenen Orten Japans fanden die Verff. eine neue Art auf Chamaecyparis pisifera S. et Z. und ihren Varietäten; die Impfversuche lehrten, daß sie auf den Blüten von Pirus Miyabei Sargent und P. Aria Ehr. var. Kamaonensis Wall. ihre Aecidiumform bildet, welche vorher Roestelia solitaria Miyabe oder R. solenoides Diet. genannt wurde.

Die Diagnose der neuen Art Gymnosporangium Miyabei ist folgende: Spermogonien erscheinen auf der oberen Seite der Blätter, wo meistens einige derselben aneinanderlagern. Aecidien auf den untersten Seiten derselben einzeln oder einige beisammenstehend, gelblichbraun, 3 mm lang. Aecidiosporen sind unregelmäßig rund oder ellipsoidisch und haben einen Durchmesser von 18—21 μ und eine Länge von 24 μ. Teleutosporenlager sind erst mit der Oberhaut bedeckt, dann hervorbrechend, warzen- oder krustenförmig die Unterlage überziehend. Teleutosporen meist zweizellig, häufig einzellig, selten dreizellig, an der Querwand kaum oder wenig eingeschnürt, 36 bis 80 $\times$ 8 bis 20 μ groß. Die Sporen der Außenschicht etwas dickwandiger, dunkelbraun. Promycelien vierzellig, 4 Sporidien tragend. Sporidien

oval, 12—18 × 7—11 μ groß. Der Pilz bildet gewöhnlich sein Lager mit dem perennierenden Mycel auf den Aesten und Stämmen von Chamaecyparis pisifera, selten auf den Nadeln dieser Art. Das Lager überzieht krustenförmig die Unterlage und ist zuerst mit der Oberhaut bedeckt; April oder Mai durchbricht es diese und kommt hervor. Endlich quillt es durch Wasseraufnahme zu einem rötlichgelben gelatinösen Klumpen. Zur Zeit der Keimung der Teleutosporen verändert es sich in eine farblose, schleimige, formlose Masse, die sich mit einem orangegelben Pulver bekleidet. Matouschek (Wien).

Maublanc, A., Ceratopycnidium, genre nouveau de Sphéropsidées. (Bull. Soc. Myc. France. T. XXIII. 1907. p. 146—149.)

Die Pykniden des Pilzes sind an der Spitze in einen schief abstehenden Hals verlängert, die Sporen sind zweizellig und hyalin. Die neue Art wird Cer. citricolum genannt, weil sie parasitisch auf den Sekreten eines Insekts auf Blättern von Citrus (aus Französisch-Kongo stammend) gefunden wurde. Offenbar hat man es mit einem Pilze zu tun, der sich intermediär zwischen die Sphäropsideen und Excipulaceen stellt. Matouschek (Wien).

Klebahn, H., Einige Beobachtungen über Nectria cinnabarina. (Gartenflora. Jahrg. LVI. 1907. p. 508—514.)

1) Parasitismus von Nectria cinn. auf Magnolien. Es grenzte totes und gesundes Gewebe aneinander; die Teile oberhalb der angegriffenen Stelle waren oft gesund und grün. Wäre das Eindringen des Pilzes die Folge eines krankhaften Allgemeinzustandes, so hätten die Zweige gleichmäßiger von dem Pilze ergriffen sein müssen. Das Pilzmycel wächst in der Längsrichtung im gesunden Gewebe weiter. Der Pilz dringt durch die vorhandenen Wunden (Stümpfe abgebrochener Seitenzweige) oder durch winzige Verletzungen in oft recht dünne Triebe ein; vielleicht gelangt gar der Pilz von auf den Zweigen vorhandenen abgestorbenen Achsen der nicht zum Fruchtansatze gelangenden Blüten aus in die Pflanze. Aber Infektionsversuche würden da einzig und allein entscheiden.

2) Heilung einer an Nectria cinnabarina erkrankten Linde. Eine mit Misteln versehene Linde aus Innsbruck wurde im botanischen Garten zu Hamburg eingepflanzt. Der Stamm erkrankte und wurde 5 cm tiefer, als Spuren der Erkrankung in der Rinde zu erkennen waren, abgeschnitten; diese Operation war leider nicht ausreichend, ein Zeichen, daß das Pilzmycel in erster Linie im Holze weiter wächst und erst aus diesem in die Rinde gelangt. Später erfolgte eine größere Operation, um die Misteln doch zu retten. Verf. macht noch darauf aufmerksam, daß der Pilz ein weit größerer Schädling ist, als man glaubt, und daß er leider stark vernachlässigt wird. Matouschek (Wien).

Hannig, E., Ueber pilzfreies Lolium temulentum. (Botanische Zeitung. Jahrg. LXV. 1907. Abt. I. p. 25—37.)

1) Treten pilzfreie Lolium-Früchte auf, so kann dies zweierlei Ursachen haben: 1) der eine Teil stammt von pilzlosen „Rassen" her, die aus pilzfreien Rückschlägen ihren Ursprung genommen haben, 2) der andere Teil entsteht an pilzhaltigen Pflanzen dadurch, daß vereinzelte Körner nicht infiziert wurden. Relativ häufig tritt pilzfreies Lolium z. B. in Upsala und Cambridge auf, nur selten z. B. bei Prag und Straßburg.

2) Die pilzfreien Früchte lassen sich äußerlich nicht von den pilzhaltigen unterscheiden; nur das mikroskopische Bild entscheidet. Zeigen die Früchte auf einem Querschnitte keinen Pilz, so ist die ganze daraus erwachsene Pflanze pilzfrei. Verf. kultivierte 4 Generationen pilzfreier Pflanzen im Freien, aber niemals trat eine Neuinfektion ein. Pilzhaltige und pilzfreie Pflanzen scheinen gleich ertragsfähig zu sein. Körner, die des größten Teiles ihres Endosperms beraubt waren, ergaben eingepflanzt normale kräftige Pflanzen.

3) Der Pilz findet in den jugendlichen Geweben, namentlich in den Vegetationspunkten, seine Existenzbedingungen vor und wird von dem Vegetationspunkte nicht am Eindringen ins Gewebe verhindert. Die Pflanzen von Straßburg und Cambridge unterscheiden sich durch die Widerstandsfähigkeit der Vegetationspunktsgewebe. Es kann sich hierbei um Klimaeinflüsse handeln, die den Wirt dem Parasiten gegenüber kräftigten, es können auch Rassenunterschiede im Spiele sein. So ist die Cambridgepflanze (Freemann) eine auffallend starke, mit sehr großen Körnern und ohne Grannen. Ob wirklich verschiedene Rassen vorliegen, ist vorläufig noch fraglich.

4) Die Giftigkeit der gewöhnlichen Körner von Lolium temulentum ist durch die Anwesenheit des Loliumpilzes bedingt. Nur die infizierten Körner enthalten das Alkaloid Temulin. Verf. schildert sein Verfahren, das Alkaloid nachzuweisen. Fütterungsversuche mit Tieren wären sehr erwünscht, doch gehören dazu größere Körnermengen, als dem Verf. zur Verfügung standen. Dies ist auch die Ursache, warum Temulin nicht dargestellt werden konnte. Zum Schlusse wird die Literatur angeführt. Matouschek (Wien).

Hegyi, D. v., Gekräuselte Gerstenähren. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. 1907. p. 334.)

Verf. fand Gerstenähren, deren Grannen bedeutend breiter als gewöhnlich und im oberen Teile stark gekräuselt waren. Es handelt sich um eine Wachstumshemmung. Wird z. B. das Blatt, das die Aehre umhüllt, von Blattläusen oder Pilzen befallen, so daß es schrumpft, dann tritt der Emporhebung der Aehre ein mechanisches Hindernis entgegen, das die Kräuselung verursacht. Dies tritt auch ein, wenn die Entfaltung der Blattspreite durch plötzlich abgekühlte Temperatur verhindert wird. A. Eichinger (Halle a. S.).

Hiltner, Ueber die Abhängigkeit der Brandanfälligkeit des Getreides von dessen Keimungsenergie und Entwickelungsgeschwindigkeit. (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz und Pflanzenbau. Jahrg. VI. 1908. Heft 6.)

Diesbezügliche, von seiten verschiedener Forscher vorliegende Beobachtungen, nach denen gegen Steinbrand besonders widerstandsfähige Getreide-, insbesondere Weizensorten, einen sehr raschen Verlauf der Keimung und Fortentwickelung zeigten, bestätigt Verf. auf Grund seiner eigenen Versuche und praktischen Erfahrungen. Die teilweise gegenteiligen Resultate Kirchners, welche Rückschlüsse von der Keimungsenergie auf die Sortenempfänglichkeit nicht zulassen, erklären sich durch die von ihm angewendete, für den in Frage kommenden Zweck ungeeignete Bestimmungsmethode der Keimungsenergie, wie sie bei den Samenkontrollstationen üblich ist. Mit Hilfe eines neuen Keimverfahrens in einem besonderen Apparat wird der Nachweis geliefert, daß Keimungsenergie und Entwickelungsgeschwindigkeit (Längenwachstum) individuell

verschieden sein kann. Zur Feststellung der erwähnten Beziehungen müssen jedoch diese beiden Faktoren herangezogen werden, was durch Anwendung des eigens konstruierten Keimapparates ermöglicht wird. Proben von Ligowo- und Fichtelgebirgshafer, die Verf. auf Grund praktischer Erfahrungen als prägnante Beispiele wählte, ergaben in diesem folgende Resultate:

1) Bei Ligowohafer waren am 5. Tag nach der Aussaat 90 Proz. aufgelaufen, die Keimlinge waren fast durchweg 3 cm lang.

2) Der Fichtelgebirgshafer hatte am 5. Tag erst 35 Proz. Keimlinge entwickelt, von denen 15 eine Länge von nur $^1/_2$—1 cm aufwiesen, während die anderen eben erst zur Oberfläche gelangt waren.

Bei der Feststellung der Keimungsenergie nach der üblichen Prüfung in Fließpapier ergab sich zwischen den beiden Proben kein Unterschied.

Der Keimapparat beruht im Prinzip darauf, daß die Samenkörper in einem möglichst indifferenten Medium (Ziegelmehl) in bestimmte Aussaattiefe gebracht werden und soll in Kürze in einer eingehenden Abhandlung beschrieben werden. Schaffnit (Bromberg).

Schander, Die Getreideroste. (Ill. landw. Zeitung. Jahrg. XXVIII. 1908. No. 56 u. 57.)

Verf. bespricht im 1. Teil die Forschungsergebnisse Erikssons und Klebahns und weist auf die Wichtigkeit der Kenntnis der einzelnen Rostarten, ihrer spezialisierten Formen und deren biologischen Verhaltens hin. Der 2. Teil enthält praktische Beobachtungen über die für die einzelnen Rostarten verschiedenen Entwickelungsbedingungen und Anweisungen über die Anwendung geeigneter vorbeugender Kulturmaßnahmen zur Bekämpfung der Parasiten. Als solche kommen folgende in Betracht:

1) Vernichtung der Zwischenwirte der Getreideroste.

2) Frühzeitiges Mähen der an Getreidefelder angrenzenden Raine und Wiesenstreifen sowie Kurzhalten derselben im Herbst. Vertilgung der Quecken auf dem Felde, Kurzhalten, wo ihnen Kultur nicht schaden kann.

3) Unterpflügen der durch Ernteausfall entstandenen Pflanzen zur Vermeidung von Uebertragung der Rostpilze auf Herbstsaaten.

4) Auswahl rostwiderstandsfähiger Sorten.

5) Förderung der Entwickelung des Getreides im Frühjahr durch Entwässerung des Bodens, geeignete Bodenbearbeitung überhaupt, zweckentsprechende Düngung und frühe Saat (da die Widerstandsfähigkeit der Pflanze mit dem Alter zunimmt). Vermeidung aller Maßnahmen, welche geeignet sind, den Befall der Pflanze mit Rost zu begünstigen, wie einseitige Stickstoffdüngung, zu dichte Saat etc.

Die geschilderten Maßregeln sind besonders zu beachten in Nordlagen, eingeschlossenen Tallagen und auf Böden, die an und für sich rostbegünstigend wirken (wie schwere, kalte, nasse Böden).

Schaffnit (Bromberg).

Krüger, Untersuchungen über die Fußkrankheit des Getreides. (Arb. aus der kaiserl. biol. Anstalt f. Land- u. Forstwirtschaft. Bd. VI. 1908. Heft 3.)

In der vorliegenden Arbeit gibt Verf. eine zusammenfassende Uebersicht über die bisherigen Untersuchungen und berichtet über seine eigenen Beobachtungen und Infektionsversuche. Diese erstrecken sich auf die als Erreger der Fußkrankheit in Betracht kommenden Schwäche-

parasiten, Leptosphaeria, Ophiobolus, Henderosonia spec., Fusarium spec. und Bakterien und ergaben keine wesentlichen neuen Resultate. Zu erwähnen wäre, daß Leptosphaeria herpotrichioides nicht nur auf Roggen, sondern bisweilen auch auf Weizen, ebenso daß Ophiobolus herpotrichus nicht nur an Weizen, sondern auch auf Roggen vorkommt. Schaffnit (Bromberg).

Störmer, K., Die in der Provinz Sachsen im Sommer 1908 beobachteten Krankheiten am Getreide. (Landwirtschaftl. Wochenschr. f. d. Provinz Sachsen. 1908. No. 35. p. 306ff.)

I. Die durch pilzliche Parasiten verursachten Krankheiten.

Die Brandkrankheiten sind im Jahre 1908 nicht selten am Getreide aufgetreten, besonders stark zeigten sich oft Flugbrand an Sommergerste und Sommerweizen, aber auch Hartbrand an Weizen tritt noch mancherorts stark auf, obwohl er leicht durch entsprechende Beizung zu beseitigen ist. Da die Infektion beim Flugbrand von Sommergerste und Sommerweizen schon in der Blütezeit erfolgt, nicht wie beim Hartbrand durch äußerlich anhaftende Sporen, so hat man bislang diesen Schädigern, die auch heuer bis 5 Proz. der Ernte vernichteten, machtlos gegenübergestanden. Verf. hat nun im Verein mit dem Saatzüchter Kühle-Gunsleben eine Reihe von Bekämpfungsversuchen ausgeführt, die darauf hinauslaufen, den im Samen schlummernden Pilz durch Erhitzung zu töten bezw. so zu schädigen, daß die Pflanze den in seiner Lebensfähigkeit unterdrückten Pilz leicht zu überwinden vermag. Zu diesem Zwecke genügt die Jensensche Warmwasserbeize noch nicht, wohl aber nach 4-stündiger Verquellung in kaltem Wasser, wie Appel nachgewiesen hat. Allerdings wird dadurch die Keimkraft derartig herabgedrückt, daß von einer praktischen Verwendung abgesehen werden muß. Dagegen hat Verf. durch Anwendung heißer trockener Luft sehr günstige Resultate erzielt. Schon Appel gelang es durch halbstündige Beizung des Getreides in 60—65° C warmer Luft den Steinbrand des Weizens vollkommen zu beseitigen. Wie aus den Zahlen der vorliegenden Arbeit hervorgeht, vermag Gerste und Weizen Temperaturen bis 110° ohne Schädigung der Keimkraft auszuhalten, vorausgesetzt, daß die Erwärmung allmählich unter dazwischenliegender Abkühlung erfolgt und die Hitze nur jedesmal 10—15 Minuten einwirkt. Verf. hat eine Gersten- und zwei Weizenproben, die aus stark brandigen Feldern stammten, derart gebeizt, daß sie zuerst 10 Minuten auf 50°, dann gekühlt, dann 10 Minuten auf 60°, dann gekühlt usw. bis 110° erhitzt wurden. Die Keimfähigkeit der so behandelten Saat ist aus der beigegebenen Tabelle genau zu ersehen, sie leidet nicht oder nur ganz unbedeutend. Auf Versuchsfeldern in Halle und Gunsleben wurden die auf die einzelnen Temperaturstufen gebrachten Proben neben unbehandelter und in anderer Weise gebeizten Proben (Formalinbeize 0,2 Proz. 1/2 Stunde, Bordeauxbrühe, Heißwasserbeize ohne Vorquellung, dieselbe mit 4-stündiger Vorquellung) vergleichend angebaut. Dabei ergab sich, daß bei der Gerste, um nur eine Versuchsreihe anzuführen, die Zahl der Brandähren waren: Unbehandelt 51, Formalin 47, Bordeauxbrühe 20, Heißluftwasserbeize ohne Vorquellung 37, dieselbe mit Vorquellung 0. Heißluftbeize. a) Samen nicht vorgetrocknet, erhitzt auf 50°: 8, auf 65°: 4, auf 75—85°: 16, auf 90—110: 1; b) Samen vorgetrocknet bei 50°, erhitzt auf 65°: 8, auf 75—85°: 4, auf 90—110°: 5. Aehnlich verhält es sich bei Weizen II, wo beispielsweise die Zahl

der Brandähren von 206 (unbehandelt) auf 45 (auf 110° sukzessive erhitzt) herabgedrückt wurde. Weizen I ergab unklare Resultate. Da die Beizung mit Heißluft demnach ziemlich sicher wirkt, die Keimkraft nicht schädigt und relativ leicht und bequem auszuführen ist so dürfte sie sich auch einen Platz in der Praxis erobern.

Verf. bespricht die üblichen Beizmethoden, wie sie seither angewendet wurden. Interessant ist, daß schon Pernot im Jahre 1900 eine trockene Erhitzung auf 85° gegen Haferflugbrand empfiehlt, während Schribeaux schon zu anderen Zwecken das Getreide auf Temperaturen über 100° erhitzte ohne Schädigung der Keimkraft.

Von den Fußkrankheiten des Getreides trat sehr stark in der Provinz der Weizenhalmtöter auf. Während Krüger, Sorauer u. a. der Meinung sind, daß die Infektion durch Ophiobolus herpotrichus erst nach Schwächung der Pflanze durch Kälte etc. erfolgen kann, scheinen die Verhältnisse in der Provinz Sachsen darauf hinzudeuten, daß der Erreger der Krankheit ein Pilz von bedeutender parasitärer Kraft ist, der eventuell erst eine sekundäre Infektion durch Ophiobolus ermöglicht.

Die durch Helminthosporium verursachte Knotenschwärze der Gerste trat in ganz erheblichem Umfang auf, sie wird aber von den Landwirten weniger beachtet, da ein Umfallen der Pflanzen nicht erfolgt.

Interessanterweise wurden im Frühjahr sehr viele Fälle bekannt, in denen junger Hafer sich schlecht entwickelte und dauernd krank blieb. Einige später entnommene Proben ergaben, daß die Seitensprosse der Pflanzen vollkommen durch Fusarium verpilzt waren und der Hauptsproß typisch fußkrank war. Man kann wohl mit Recht bei den Fußkrankheiten im allgemeinen den Fusarium-Arten eine große Rolle beimessen, zumal Hiltner in neuester Zeit nachgewiesen hat, daß die Verschleppung der Krankheitserreger durch das Saatgut erfolgt.

Von den Rostarten sind nur Puccinia triticina und Puccinia dispersa Secalis stärker aufgetreten, ohne jedoch wesentlichen Schaden zu verursachen, während Puccinia glumarum so gut wie nicht und Puccinia graminis nur in feuchten Lagen stärker sich zeigte; das gleiche gilt von Puccinia simplex und Puccinia coronata.

Vereinzelt wurde auch Erysiphe graminis und lokal oft sehr stark Claviceps purpurea beobachtet.

A. Eichinger (Halle a. S.).

Butler, E. J., Report on coconut palm disease in Travancore. (Agric. Research Inst. Pusa, Bull. 1908. No. 9. 23 p.; siehe auch Agric. Journ. of India. Vol. III. Part 2. 1908. p. 177.)

Eine bisher unbekannte Erkrankung der Kokospalmen wurde von Butler in Travancore (Britisch-Indien) beobachtet. Die Krankheit verbreitet sich zwar nur langsam, verursacht aber beträchtlichen Schaden. Die ersten Symptome der Krankheit zeigen sich in einer Verfärbung und schließlichem Herabhängen der Blätter. Zunächst werden die äußeren Blätter in Mitleidenschaft gezogen, und lassen sich leicht vom Baume loslösen. Später werden auch die übrigen Organe befallen; die Früchte entwickeln sich in geringer Anzahl und sind kleiner als die normalen. Die erkrankten Palmen vertrocknen allmählich und sterben nach 5 bis 10 Jahren ab. Außer Kokospalmen werden auch Corypha, Caryota und Areca befallen. Die Erkrankung verläuft bei letzteren in gleicher Weise wie bei den Kokospalmen; Areca-Palmen sterben meist nach 3–5 Jahren niemals aber innerhalb einiger Monate ab, wie dies bei der Koleroga-

Krankheit dieser Palmen der Fall ist. Butler konnte an den Blättern oder am Stamme keine Mycelien entdecken; dagegen fand er an den Wurzeln der erkrankten Bäume einen zur Gattung Botryodiplodia gehörigen Pilz, auf dessen Vorhandensein das Absterben der Palmen zurückzuführen sein dürfte. Der Pilz kann durch Erde, worin erkrankte Bäume gestanden haben, übertragen werden. Als einziges Bekämpfungsmittel ist das Roden der erkrankten Pflanzen samt den Wurzeln und das Verbrennen derselben zu empfehlen.

Zum Schluß geht Butler noch kurz auf einige andere Parasiten der Palmen (Pestalozzia Palmarum, Pythium palmivorum) in Travancore ein. v. Faber (Berlin).

Salmon, E. S., Apple leaf-spots (Gardener's Chronicle. Vol. XLII. 1907. p. 305—306. With 5 figures.)

Notiz über das Vorkommen zweier neuer Blattfleckenkrankheiten auf Pirus Malus in England, hervorgerufen durch eine Phyllosticta- resp. Sphaeropsis-Art. Aehnliche Krankheiten sind aus Nordamerika bekannt, doch steht es noch nicht fest, ob dieselben mit den in England auftretenden identisch sind. Jene Bäume, die zur Abwehr des Fusicladium mit Bordeauxbrühe gespritzt waren, wiesen auch die oben genannten Erkrankungen nicht auf. H. Sydow (Schöneberg-Berlin).

Scott, W. M. and **Rorer, J. B.,** Apple leaf-spot caused by Sphaeropsis malorum. (U. S. Department of Agriculture Bureau of Plant Industry Bulletin. Part V. 1908. No. 121. p. 47—54. Plates III—IV.)

In manchen Gegenden Nordamerikas werden die Apfel- und Birnbäume häufig von Phyllosticta pirina Sacc. (= Coniothyrium pirinum Sheldon) befallen und wird diesem Pilze in neuester Zeit allgemein die auffallende Fleckenbildung an den Blättern zugeschrieben. Wie jedoch die Verff. durch eingehende Untersuchungen und Infektionsversuche feststellen konnten, kommt als Ursache der Fleckenbildung ein anderer, auch häufig an den Aesten auftretender Pilz in Betracht, nämlich Sphaeropsis malorum. Die genannte Phyllosticta soll sich nur später auf den von Sphaeropsis verursachten Flecken ansiedeln, auf welchen oft noch Vertreter anderer Gattungen, z. B. von Hendersonia, Coryneum, Pestalozzia, Alternaria vorkommen.

Bespritzungen mit schwacher Bordeauxbrühe werden zur Bekämpfung der Krankheit empfohlen. H. Sydow (Schöneberg-Berlin).

Laubert, Der echte Mehltau des Apfelbaums, seine Kapselfrüchte und seine Bekämpfung. (Deutsche landw. Presse. Jahrg. XXXV. 1908. No. 59.)

Verf. berichtet in diesem Artikel über die nach den vorliegenden Literaturangaben verhältnismäßig selten beobachtete Erscheinung der Bildung von Perithecien des echten Apfelbaummehltaus, welche von ihm in diesem Jahr aufgefunden wurden, bespricht die Morphologie der Fruchtkörper und im Zusammenhang damit die systematische Stellung des Pilzes, für welche die Gattung Sphaerotheca und Podosphaera in Betracht kommen. Schaffnit (Bromberg).

v. Tubeuf, Die Blattbräune der Süßkirschen in der Pfalz. (Naturwissenschaftl. Zeitschr. f. Forst- u. Landwirtschaft. 1908. Heft 6.)

Verf. richtet die Aufmerksamkeit auf das Auftreten des die Blatt-

bräune der Süßkirschen verursachenden Pilzes Gnomonia erythrostoma in Bayern. Da bereits früher durch staatliches Vorgehen diesem Schädling gegenüber gute Erfolge erzielt worden sind — es handelt sich um Abpflücken und Verbrennen des toten, hängenden Laubes und der abgefallenen Blätter — so wäre Beachtung seiner Bedeutung und des Umfanges der von ihm hervorgerufenen Schädigung auch jetzt angebracht. Es folgt dann ein Hinweis darauf, daß die Sporen des Pilzes zweizellig sind, nicht, wie seinerzeit Frank angab, einzellig.

Ehrenberg (Breslau).

Brick, C., Die Ausbreitung des amerikanischen Stachelbeermeltaues in Europa. (Verhandl. des naturwiss. Vereins in Hamburg. 1907. 3. Folge. XV. 1908. p. LXXXVI—LXXXIX).

Gewissenhaft zusammengestellte Daten aus den in Betracht kommenden Ländern Europas nebst geschichtlichen Reminiszenzen und Bekämpfungsmaßregeln. Matouschek (Wien).

Salmon, Ueber das Vorkommen des amerikanischen Stachelbeermehltaus [Sphaerotheca mors uvae (Schwein.) Berk.] in Japan. (Int. phytopath. Dienst. Jahrg. I. 1908. Stück 2.)

Verf. stellt auf einer ihm aus Japan zugesandten Pflanze, Stephanandra flexuosa, das Vorkommen von Sphaerotheca mors uvae fest; da der Pilz jedoch in bezug auf die Größe der Perithecien vom Stachelbeermehltau etwas abweicht, trennt ihn Verf. als Sondervarietät „japonica" ab. Ob der Parasit in Japan auch auf Ribes-Arten vorkommt, steht dahin. Schaffnit (Bromberg).

Uzel, H., Ueber einen Zuckerrübenfeind (Heterodera Schachtii), der immer bedrohlicher wird. (Zeitschrift für Zuckerindustrie in Böhmen. Jahrg. XXXII. 1908. p. 262.)

Verf. gibt zuerst die äußeren Merkmale, welche auf das Auftreten der Rübennematode an Zuckerrüben schließen lassen, an, gibt weiter, unterstützt durch Zeichnungen, eine Beschreibung des Schädlings und seiner Entwickelung, um sodann auf die Abwehrmaßregeln überzugehen. Die empfehlenswertesten Schutzmaßregeln (das sind Mittel, die einen Schädling nicht vermehren lassen) sind: 1) Rationelle Fruchtfolge; 2) Verhinderung der Einschleppung der Nematoden von anderen infizierten Grundstücken, a) durch abgefallene und abgewaschene Rübenerde (derartige Erde ist zwecks Tötung der Nematoden mit dem sechsten Teile frischen Aetzkalks zu vermengen), b) durch Mist aus solchen Stallungen, wo das Vieh mit rohen Rüben oder ihren Abfällen gefüttert wird, c) durch Erde, welche den landwirtschaftlichen Geräten, Hufen des Viehes und Schuhen der Arbeiter anhaftet, d) durch Regenwasser von infizierten Grundstücken (ist durch geeignete Gräben abzuhalten), e) durch Samenrüben, f) durch Teichschlamm; 3) Vernichtung von Hederich (Raphanus raphanistrum) und Ackersenf (Sinapis arvensis); 4) seichtes Pflügen (nicht tiefer als 18—25 cm); 5) guter Düngerzustand des Bodens; 6) möglichst früher Anbau; 7) nachträgliche Kalidüngung der stark geschädigten Rüben. Bekämpfungsmaßregeln sind: 1) Aussetzen des Anbaues von Zucker- und Futterrüben, Hafer, Kohlarten, Raps, Spinat auf längere Zeit, und Anbau von Kartoffeln, Luzerne oder Klee, wobei aber darauf zu achten ist, daß diese Pflanzen nicht angebaut werden dürfen, wenn die Rüben von dem Pilz Rhizoctonia violacea befallen worden waren; 2) Anbau von Fangpflanzen nach der Methode

Kühn (die Methode wird nach der von Kühn im Flugblatt No. 11 der Kaiserlichen Biologischen Anstalt für Land- und Fortwirtschaft mitgeteilten Anleitung beschrieben). 3) Treten die Nematoden nesterweise auf, so sind diese Nester durch einen Graben von 70—90 cm Tiefe und 50 cm unterer Breite, dessen Boden mit Aetzkalk bedeckt wird, zu umgeben. 4) In derartige Nester kann man auch 20 cm tiefe, 50 cm voneinander entfernte Löcher stechen, die je mit 100 g (= 80 ccm) Schwefelkohlenstoff beschickt werden. Die Löcher werden dann rasch zugetreten und, wenn möglich, die Erde über den Löchern mit Wasser begossen. Auf einem zu nassen oder zu bindigen Boden bringt Schwefelkohlenstoff keinen Erfolg. 5) Düngung des Feldes mit etwa 50 Meterzentner Aetzkalk pro Hektar. Stift (Wien).

Uzel, H., Mitteilung über Krankheiten und Feinde der Zuckerrübe in Böhmen im Jahre 1906. (Zeitschr. für Zuckerindustrie in Böhmen. Jahrgang XXXII. 1908. p. 575.)

Außer der Rübennematode trat, besonders in der Umgebung von Prag, auch die Milbenspinne (Tetranychus) in so ungewöhnlichen Mengen auf, daß das Laub bis auf die jüngsten Herzblätter vollkommen vernichtet wurde, wodurch naturgemäß eine Schädigung im Wachstum der Zuckerrüben eintrat. Das befallene Laub ist zu beseitigen und zu verbrennen; ein Bespritzen der Blätter mit tötenden Flüssigkeiten dürfte nicht viel Erfolg haben. Gegenüber dem Wurzelbrand wird eine besonders sorgfältige Bodenbearbeitung empfohlen. In 2 Fällen wurden bei Wurzelbrand einmal das Gewebe von Bakterien und in dem anderen Fall von Pythium de Baryanum gefüllt vorgefunden. Die Hauptursache der Herz- und Trockenfäule ist Mangel an Feuchtigkeit, wie sich dies besonders im Berichtsjahre gezeigt hat. Zur Bekämpfung empfiehlt es sich, die unteren Bodenschichten zu lockern und organische Stoffe in dieselben einzubringen, und weiter wäre im allgemeinen eine übertriebene Entwässerung des Bodens zu vermeiden und auch nicht ein zu üppiges Wachstum der Rüben im Frühjahr zu unterstützen. Gegen Drahtwürmer hat sich das Auslegen von Kartoffelstücken bewährt. Geringe Schäden verursachten die Larven der Runkelfliege und der Gartenhaarmücke, Feldmäuse, Erdraupen, und unbedeutend war das Auftreten der sogenannten Mosaikkrankheit, des Pilzes Phyllosticta betae, der Erdflöhe (besonders der Arten Phyllotreta vittula und Ph. atra), des Rüsselkäfers Sitona sulcifrons, der Enchyträiden und des kleinen Springschwanzes (Sminthurus). Eine Zuckerrübe war ziemlich stark von Rübennematoden befallen und außerdem waren ihre Blätter zum größten Teil durch den Angriff der Pilze Cercospora beticola, Phyllosticta betae und Clasterosporium putrefaciens abgestorben. Ein Gelb- und Braunwerden der Blätter war auf ungünstige chemische oder physikalische Eigenschaften des Bodens zurückzuführen, unaufgeklärt blieb eine Kräuselung des Blattrandes und das Auftreten der Albicatio. Auf mit Wasser befeuchteten Samenknäueln wurden die Larven der Fliegen Homalomyia canicularis L. und Scatopse pulicaria Lw. gefunden. Topfversuche zeigten, daß der Pilz Rhizoctonia violacea nur schwer auf Luzerne und Möhre übergegangen und überdies noch von Bakterien verdrängt worden ist. Die Resultate des Abstreifens des Zuckerrübenlaubes mit einem Fangnetz, um die darauf lebenden Insekten kennen zu lernen, waren folgende: 1) Käfer: Phyllotreta vittula, Ph. atra und Ph. nigripes, Sitona sulcifrons und S. lineata,

Phalacrus fimetarius, Ceutorrhynchus napi, C. pleurostigma, Scymnus minutus, Coccinella 7-punctata und C. 5-punctata. 2) Kleinzirpen: Chlorita flavescens Fabr. und Ch. Solani Koll., Philaenus spumarius L., Eupteryx Carpini Fourc., Cicadula sexnotata Fall., Liburnia pellucida Fabr., Eupteryx Curtisii Flor., Thamnotettix sulphurellus Zett., T. tenuis Germ., Typhlocyba Ulmi L., Pediopsis virescens Fabr. und Deltocephalus pulicaris Fall. und 3) Fliegen: Scaptomyca (Drosophila) graminum Fall., Chironomus (Comptocladius) aterimus Mg., Mycetophila biusta Mg., M. punctata Mg., Limosina limosa Fall., Sciara aprilina Mg., Phorbia cardui Mg., Scaptomyza flaveola Mg., Phorbia sprata Mg., Ceratopogon niger Win. und Ceratomyza denticornis Pz. Von Hymenopteren wurden abgestreift: Opius nitidulator Neer., Apanteles ordinarius Rtzb. und Sagaritis cognata.

Stift (Wien).

Störmer, Neue Ergebnisse in der Erforschung der Krankheiten der Zuckerrübe. Vortrag, gehalten gelegentlich der Generalversammlung des Vereins der deutschen Zuckerindustrie in Hamburg am 29. Mai 1908. (Zeitschr. d. Vereins der deutschen Zuckerindustrie. 1908. p. 718—739.)

S. gibt zunächst bezugnehmend auf die im vergangenen Jahre für die Entwickelung des Saatgutes ungünstigen Witterungsverhältnisse einen Ueberblick über die verschiedenen Faktoren, welche die Haltbarkeit der Samen nachteilig beeinflussen (wie namentlich zu hoher Wassergehalt) und geht dann näher auf die Bedeutung der Keimprüfung der Samen im Thermostaten ein. Ein pathologisches Moment ist nach seinen Untersuchungen der Einfluß der auf den Samen vorhandenen Mikroorganismen auf das Keimresultat und wird gesteigert, wenn man den Keimprozeß so gestaltet, daß eine gegenseitige Infizierung der Samen (bei der üblichen gemeinsamen Vorquellung) möglich ist. Bei vorangegangener Sterilisation ist die Gefahr der Infektion beseitigt. So ergeben 100 Knäule

	nicht sterilisiert	sterilisiert
vorgequollen	133 Keime	189 Keime
nicht vorgequollen	153 „	178 „

Im Anschluß an diese Resultate bespricht S. die Frage, welcher Einfluß den pathogenen Organismen beizumessen und was durch Samendesinfektion zu erreichen sei. Die diesbezüglichen Ausführungen stützen sich auf die Untersuchungen von Hiltner, Busse, Peters u. A. und werden mit einem Hinweis auf die Bedeutung der Heißluftbeize, die nach den angestellten Versuchen auch auf die Rübensamen ausdehnbar sei und gute Erfolge verspreche, geschlossen, worauf Ref. zur Besprechung einiger neuer für die Untersuchung der Krankheiten der Rübenpflanzen wichtiger Gesichtspunkte übergeht.

Während an der parasitären Ursache der Erkrankung der Rüben an Wurzelbrand festzuhalten ist, müssen die Faktoren, die zur Erkrankung disponieren, mehr als es seither geschehen, berücksichtigt werden. Als solche kommen in erster Linie der Wassergehalt des Bodens und die physikalische Bodenbeschaffenheit in Betracht. Der Wassergehalt der verschiedenen Böden ist abhängig von der Wasserkapazität und ist je nach der Lagerungsdichtigkeit des Mediums ein ganz verschiedener. Die Wasserkapazität aber übt einen

bedeutenden Einfluß auf die Keimung aus, wie aus folgendem Beispiel erläutert wird. 100 Knäule ein und derselben Rübe ergeben bei 14-tägiger Keimung in sterilem Sand mit einem Wassergehalt entsprechend

22 Proz. der kleinen Kapazität bei Rübe I 153, Rübe II 133 Keime
16 „ „ „ „ „ „ I 172, „ II 155 „

Der höhere Wassergehalt vermindert also die Keimzahl. Einen beträchtlichen Einfluß auf die Entstehung des Wurzelbrandes stellt ferner die Verkrustung des Bodens dar und darf nicht unterschätzt werden. Nach den Beobachtungen von S. findet man allerdings Wurzelbrand bei jungen Pflänzchen weit mehr an den Stengelteilen, die unter der Kruste sitzen, obgleich durch die Risse des Bodens die erforderliche Sauerstoffzuführung erfolgt. Für die Bekämpfung der Verkrustung scheint die Anwendung von Druckrollen von größter Bedeutung zu sein.

Ein dritter aktueller Gesichtspunkt ist schließlich die Kochsalzdüngung. Die bei ihrer Anwendung beobachtete außerordentliche Ertragssteigerung liegt nicht allein an der paralysierenden Wirkung des Kochsalzes auf die kolloidale Beschaffenheit der Zeolithe, sondern ist wohl in der Hauptsache auf die Abstammung unserer Zuckerrübe von einer Salzrübe, der Beta maritima, zurückzuführen. Wird ihr das nötige Kochsalz als Nahrungsbestandteil vorenthalten, so tritt sozusagen ein physiologischer Hungerzustand ein, der zu allen Krankheiten leichter disponiert. Die geeignete Form der Kochsalzdüngung ist die Verwendung von Sylvinit, wie S. an Beispielen aus der Praxis erläutert.

Die günstige Wirkung der Kochsalzdüngung wird in der sich dem Vortrag anschließenden Diskussion auch von Strohmer und Preißler bestätigt. Herzfeld hebt hervor, daß Kochsalz auf den Boden wie in der Seifenfabrikation aussalzend wirkt, es bringt die gallertartigen aufgeschwemmten Teile des Bodens zum Gerinnen und erhöht infolgedessen die Durchlässigkeit desselben.

Eine Interpellation über die zulässigen Temperaturen bei Anwendung der Heißluftbeize zur Abtötung von Parasiten beantwortet S. dahin, daß diesbezügliche genügende Versuche noch nicht vorliegen, um die Methode in der Praxis einzuführen. Die Ueberschreitung einer Temperatur von 60° C ist nicht anzuraten. Schaffnit (Bromberg).

Busse, W., Untersuchungen über die Krankheiten der Rüben. (Arb. a. d. K. biol. Anst. f. Land- u. Forstw. Bd. VI. 1908. p. 352.)

Faber, F. C. v., Ueber die angebliche Bedeutung von Myxomonas betae Brzezinski für den Wurzelbrand und die Herz- und Trockenfäule der Rüben.

Bekanntlich hat Brzezinski für die im Titel angegebenen Krankheiten der Rübe einen Schleimpilz verantwortlich gemacht, dem er den Namen Myxomonas betae gegeben hat. F. C. v. Faber weist nach, daß Brzezinski nur auf Grund grober Verwechselungen und ungenügender Kenntnis mikroskopischer Technik zu diesem Resultat gekommen ist. Zoosporen, Myxamöben, Plasmodien, Sporen, Cysten und Zoosporangien, die Brzezinski zu seinem Scheimpilz gehörig sicher nachgewiesen haben will, erweisen sich als Zersetzungsprodukte der Zelle, Oeltröpfchen, Bakterien oder Teile anderer Pilze.

Die Arbeit kann nicht den Anspruch erheben, in die Literatur über Wurzelbrand aufgenommen zu werden.

A. Eichinger (Halle a. S.).

Busse, W. und **Ulrich, P.,** Ueber den Keimkraftapparat für Rübensaaten von E. Scharf.

Zur Beurteilung der Qualität eines Rübensamens verwendet man bislang die Anzahl der Keimlinge und keimenden Knäuel von 100 Knäueln, die in einem Keimapparat zur Keimung ausgelegt werden. Dabei werden auch in manchen Fällen die kranken Keimlinge berücksichtigt. Scharf geht bei Konstruktion seines Apparates von der Tatsache aus, daß eine Saat, die schnell und kräftig den Boden zu durchdringen vermag, viel weniger Erkrankungen verschiedener Art, besonders Wurzelbrand ausgesetzt ist, auch einen gleichmäßigeren Bestand liefert als ein langsam und unregelmäßig keimendes Saatgut. Für die Praxis ist es vor allem wichtig, ein Saatgut zu haben, das in kürzester Zeit die meiste Arbeit leistet. Nach den bisherigen Keimmethoden läßt sich dies nicht schlechtweg beurteilen. Scharf konstruierte einen neuen Keimungsapparat, mit dem gemessen wird, welche Arbeit 100 Knäuel einer Saat in einer gegebenen Zeit zu verrichten vermögen. Das Prinzip des Apparates besteht darin, daß eine Platte von 1000 g von den emporstrebenden Keimlingen gehoben wird. Diese Hebung überträgt sich auf ein Zeigerwerk, an dem man die Hebung von $^1/_{1000}$ mm oder eine Arbeit von 1 kg-Mikron ablesen kann. Die Saat sollte dann die beste sein, die nach einer bestimmten Zeit die meisten Kilogramm Mikra anzeigt. Verff. haben den neuen Apparat, sowohl im Vergleich mit den anderen bisher gebräuchlichen geprüft, als auch die Ergebnisse einer Reihe von Keimversuchen mit derselben Saat im neuen Keimapparat unter sich verglichen. Daraus geht hervor, daß man auch nach der alten Methode, die lediglich die Zahl der Keime und der keimenden Knäule berücksichtigt, auf die Arbeitsleistung des Samens einen Schluß ziehen kann, daß aber bei Bestimmung der „Keimkraft“ im Scharfschen Apparat innerhalb ein und desselben Saatgutes Differenzen vorkommen, die es nicht erlauben, auf Grund einer Differenz von einigen Hundert Kilogramm-Mikra eine Saat der anderen vorzuziehen. Schließlich dürfte auch der Preis des Apparates (105 M.) seiner Einführung noch vorderhand im Wege sein. A. Eichinger (Halle a. S.).

Busse, W. und **Ulrich, P.,** Ueber das Vorkommen von Wurzelbranderregern auf der Rübensaat.

Als Erreger des Wurzelbrandes sind drei Pilze erkannt worden: Phoma betae Frank, Pythium de Baryanum Hesse und Aphanomyces laevis de Bary. Ob der Befall durch diese Parasiten dem Boden oder der Rübensaat zur Rechnung falle, darüber war man sich nicht klar. Verff. haben nachgewiesen, daß auf den Rübenknäueln in ihren Versuchen nur Phoma betae angetroffen wurde, daß also Pythium und Aphanomyces vom Boden aus infizieren. Das Auftreten von Wurzelbrand läßt also durchaus nicht immer auf eine schlechte oder verseuchte Rübensaat schließen, es kommen, wie aus einem angeführten, besonders lehrreichen Fall der Praxis hervorgeht, vielleicht Verhältnisse äußerer Art in Betracht, die auf demselben Boden oft weitgehende Erkrankung zur Folge haben, während zu anderer Zeit der Bestand vollkommen gesund bleibt. Die Schäl- und Desinfektionsverfahren haben also dann nur beschränkten Wert, sie kommen nur da in Betracht, wo Phoma betae der alleinige Erreger ist.

Weiter wenden sich Verff. gegen die Bemühungen Linharts, der bei der Samenkontrolle die Anzahl der kranken Keimlinge als Maßstab für die Güte einer Rübensaat betrachtet haben will. Sind doch die Ver-

hältnisse im Keimbett ganz andere als auf dem Felde und lehrt doch die Praxis, daß auch das im Keimbett als vollkommen gesund befundene Saatgut auf dem Felde unter ungünstigen äußeren Verhältnissen einen starken Befall durch Wurzelbrand zeigen kann.

A. Eichinger (Halle a. S.).

Hori, S., A disease of the Japanese Ginseng caused by Phytophthora cactorum (Cohn et Leb.) Schr. (Bullet. impr. centr. agricult. exp. Stat. Tokio. I. 1907. No. 2. p. 153 ff. Mit 1 Taf.)

Im nördlichen Japan befällt der genannte Pilz die Pflanzen Aralia quinquefolia var. ginseng in starkem Maße, so daß das ganze Blattwerk zerstört wird. Bei feuchtem Frühlingswetter tritt der Schädling recht gefährlich auf. Es wird Bordeauxbrühe als Schutzmittel empfohlen.

Matouschek (Wien).

Camara Pestana, J. de, La „maladie des châtaigniers" gangrène humide de la racine du châtaignier. (Bull. de la Soc. Portugaise des sc. nat. T. I. 1907. p. 55—70. Mit 2 Taf.)

Da die Kastanienbaumkrankheit schon recht lange bekannt ist, wurde über sie viel geschrieben. Auf den geschichtlichen Rückblick können wir hier verzichten. Verf. nahm nochmals Untersuchungen vor und gelangt zu folgendem Resultat: Die Wurzeln werden von „gangrène humide" (feuchte Krebsfäule) ergriffen, welche durch Mycorrhizenpilze erzeugt wird, indem diese aus Mangel an Bodennitrifikation in parasitären Zustand übergehen und den Bakterien den Zugang zu den kranken Wurzeln freimachen. Warum gerade der Tod der Bäume eintritt, wird dahin gedeutet, daß eine Störung des Gleichgewichtes in bezug auf die Entwickelung des in der Luft befindlichen Teiles der Pflanze und des Wurzelsystems auftritt. Es empfiehlt sich daher, den erkrankten Bäumen Nitrate in den Boden zuzufügen, ansonst aber auch bei gesunden Bäumen auf Auflockerung und Drainage des Bodens zu sehen, wobei Kalkdüngung in der kalten Zeit zu empfehlen ist.

Matouschek (Wien).

Tubeuf, v., Erkrankung der Laubsprosse von Alnus incana durch Taphrina Alni incani. (Naturw. Zeitschr. f. Forst- u. Landwirtschaft. 1908. Heft 1. p. 68.)

Verf. stellt fest, daß Taphrina Alni incani (Kühn) Magn., die normalerweise die weiblichen Infloreszenzen der Weißerle befällt, unter bestimmten Verhältnissen auch die der Schwarzerle und auch die Laubsprosse der Weißerle befallen kann. Letztere Fälle sind recht selten. Dann konstatiert er, daß Taphrina aurea (Pers.) Fr., die nach Sadebeck an Blättern von Populus nur nach der Blattoberseite gewölbte Blasen erzeugt, auch Blasen hervorbringt, die nach unten gewölbt sind.

A. Eichinger (Halle a. S.).

Brick, C., Ueber Erkrankungen der Rotbuchen im Volksdorfer Walde. (Verhandl. des naturwiss. Vereins in Hamburg 1907. 3. Folge. Bd. XV. 1908. p. LXIII—LXIV.)

Die erkrankten Bäume zeigen streifenförmige, 10—30 cm breite oder in den oberen Stammteilen inselförmige Stellen, die von der Rinde gänzlich entblößt und mit weißem Pilzmycel bedeckt sind. Durch die weiße Farbe der von der Rinde ziemlich plötzlich entblößten Stellen wird die Erscheinung besonders augenfällig. Am Rande sind die Streifen meist mit einem aus dem gesunden Stammteil hervorgegangenen Wulste umkleidet. Das Holz unter diesen Wunden ist häufig bis zur Mitte des

Stammes weißfaul zersetzt und morsch. Die Zersetzung verursachen Agaricus ostreatus Jacq., Polyporus radiatus Sow. und Stereum rugosum Pers. Da diese Arten nicht als besonders gefährliche Schädlinge unserer Bäume gelten, muß ihr Parasitismus jedenfalls erst durch andere Ursachen vorbereitet sein. In der Tat fand Verf. auf allen erkrankten Bäumen die Wolllaus Cryptococcus fagi Bärenspr. Durch Saugen ruft sie gallenartige Bildungen und Aufreißen der Rinde hervor und die Sporen können nun durch die Insekten oder durch den Wind in die Wunden gebracht werden. Ihre Keimfäden dringen zuerst in die abgestorbene und dann in die gesunde Rinde ein und zuletzt in das Holz, wo sie die Weißfäule erzeugen. Matouschek (Wien).

v. Speschnew, N. U., Die Pilzparasiten des Teestrauches 50 p. 4 farb. Tafeln. Berlin (R. Friedländer) 1907.

Die Bemühung der deutschen Kolonialverwaltung, in den Kolonieen neue Hochkulturen einzuführen, unter denen sicherlich der Teestrauch und seine Kultur einen namhaften wirtschaftlichen Nutzen abwerfen würde, gibt Verf. die Anregung, seine Originalarbeit, die 1904 in russischer Sprache veröffentlicht wurde, in deutscher Uebersetzung erscheinen zu lassen.

Es werden hauptsächlich die in den Kaukasusländern vorkommenden Krankheiten des Tees eingehend besprochen, unter denen wohl Pestalozzia Guepini Berk. et Desm. und Hendersonia theicola Cooke die schädlichsten sind. Außerdem werden noch andere in den europäischen Plantagen bisher noch nicht aufgetretene, in Indien aber schon längst bekannten Pilze erwähnt.

Von den 21 bisher bekannten Teekrankheiten sind schon 14 Arten in den kaukasischen Plantagen aufgetreten, also ungefähr 66 Proz. der gesamten Zahl. Unter diesen sind 6 Arten neu, nämlich: Coleroa venturioides Sp., Macrophoma Theae Sp., Macrosporium theaecolum Sp., Pleospora Theae Sp., Phyllosticta Theae Sp. und der vermutliche Erreger des Bräunens der Teeblätter, ad inter. Pseudocommis Theae Sp.

Im letzten Kapitel gibt Verf. noch eine Beschreibung über die Herstellung und Anwendung der Hauptbekämpfungsmittel.

Die zahlreichen zum Teil farbigen Abbildungen sind recht anschaulich, und ergänzen den Text in würdiger Weise. v. Faber (Berlin).

Stevens, F. J., The Chrysanthemum ray blight. (Botanical Gazette. Vol. XLIV. 1907. p. 341—258).

In Nord-Carolina wirkt Ascochyta Chrysanthemi n. sp. auf Chrysanthemum indicum cultiv. verheerend; es werden alle Teile des Wirtes befallen, so daß er sich bald verfärbt. Auf gesunde Stöcke läßt sich der Pilz leicht übertragen. Matouschek (Wien).

Salmon, E. S., A new Chrysanthemum disease. (Gardener's Chronicle. Vol. XLII. p. 213. With 2 figures.)

Verf. berichtet über das Vorkommen von Septoria chrysanthemella Sacc. in England. Der Pilz, welcher in Chrysanthemum-Kulturen sehr schädigend auftreten kann, ist zuerst 1890 in Italien gefunden worden und hat sich seitdem in Deutschland, Böhmen, Dänemark und Amerika sehr ausgebreitet. H. Sydow (Schöneberg-Berlin).

Magnus, P., Ueber die Benennung der Septoria auf Chrysanthemum indicum und deren Auftreten im mittleren

Europa. (Berichte d. Deutsch. botan. Gesellsch. XXV. 1907. p. 299—301.)

Der auf Chrysanthemum indicum wachsende Pilz muß Septoria chrysanthemella Sacc. heißen, da Allescher für Chr. Leucanthemum eine Septoria Chrysanthemi beschrieben hat. Der erstgenannte Pilz ist, wie neuerdings nachgewiesen wurde, in Europa recht weit verbreitet. Matouschek (Wien).

Paulsen, F., Sul Roncet. (Attività del R. Vivajo di Viti Americane di Palermo dal 1898 al 1906. Bullettino Ufficiale d. Minist. di Agricultura. Anno 1908. Supplem. p. 1246—1249.)

Die mehrjährigen Beobachtungen des Verf. über das Auftreten der gefürchteten Roncetkrankheit oder Krauterer der amerikanischen Reben haben ihn zu der Ueberzeugung geführt, daß es sich um keine bestimmte Krankheit handelt, sondern um ein äußeres Zeichen verschiedener Alterationen im Lebensbetrieb dieser Reben. Die Seuche wird ausschließlich durch Fortpflanzung kranker Setzlinge verbreitet, daher ratet er den Weinbergsbesitzern, einen eigenen Muttergarten gesunder Reben einzurichten.

Die Resistenz vor dem Roncet nimmt ungefähr in der nachstehenden Reihenfolge zu: Rupestris du Lot, Riparia × Rupestris 3306 und 3309, Riparia Gloire und Grand Glabre, Berlandieri × Rupestris (1737, 301, 219), Berlandieri × Riparia (420 A und 157—11), Berlandieri (1 und 2), Aramon × Rupestris, Chasselas × Berlandieri 41 B, Mourvèdre × Rupestris 1202. Wie man sieht, amerika-europäische Bastarde sind widerstandsfähiger als reine Amerikaner. In der Tat sind unsere Reben ziemlich resistent, indessen nicht alle im gleichen Maße. Die Pfropfung einheimischer Reben auf kranke Amerikaner kann in einigen Fällen die Krankheit zum Verschwinden bringen, wenn die Alteration nicht zu weit fortgeschritten war. Feuchte Jahreszeit begünstigt das Wuchern dieser Krankheit. Kaum die Hälfte Setzlinge aus kranken Amerikanern kommt zu einer Wurzelbildung; sie bleiben immer schwach und sind zur Veredelung untauglich. E. Pantanelli (Rom).

Peglion, V., Contributo a lo studio dello perforazione della vite e di altre piante legnose. 24 p. 1 Taf. Ferrara (Bresciani) 1908.

Die Durchlöcherung der Blätter bei der Rebe und verschiedenen Obstbäumen hängt meistens mit Frostbeschädigungen der Knospen, manchmal mit den Schnittverletzungen am Holze oder mit einer falschen Erziehung des Baumes zusammen. Das verschiedene Verhalten der einzelnen Sorten wird durch ihre verschiedene Empfindlichkeit gegen den Frost oder Schnittverletzungen bedingt. E. Pantanelli (Rom).

Reh, L., Insektenfraß an Kakaobohnen. (Zeitschr. f. wissenschaftliche Insektenbiol. Bd. III. 1907. Heft 1.)

Kakaobohnen aus Lagerhäusern zeigen Insektenfraßstellen, die durch Raupen eines Zünslers, Ephestia elutella Hb., und den Kaffeekäfer, Araeocerus fasciculatus De Geer, hervorgerufen sind. Verf. berichtet über die geographische Verbreitung, Biologie und Morphologie des Schädlings und empfiehlt als Bekämpfungsmaßregeln Behandlung der befallenen Ware mit giftigen Gasen, hohen Wärmegraden etc. Schaffnit (Bromberg).

Krassilstschik, J. M., Zur Frage über die Schädlinge des Flachses in den Gouvernements Bessarabien und Cher-

son und im nördlichen Kaukasus. (Mitteil. d. bessarabischen naturforsch. Gesellsch. 1907. p. 71—127.) [Russisch, mit deutschem Resumé.]

Verf. hat in der Arbeit: „Die Luzernen- oder Flachseule (Heliothis dipsaceus L.) und manche andere Schädlinge des Flachses im nördlichen Kaukasus" (St. Petersburg 1900) nachgewiesen, daß die Raupe der genannten Eule und die Conchylis epiliana Zell. arge Schädlinge des Flachssamens sind. Die Dipsaceus-Larve frißt am Flachs ausschließlich die Samen, an der Luzerne aber alle Teile der Pflanze. Verf. ergänzt in vorliegender Arbeit die Daten bezüglich der Eiablage und der Raupenentwickelung und konstatiert zwei Generationen. Die Parasiten der Raupe sind eine nicht näher bestimmbare Tachine, die Hymenopteren Campoplex bucculentus Holmgr. und eine Species indef., eine Entomophthora und eine Isaria, ferner Microclossia sp. (Sporozoe) und das Bacterium Streptococcus Pastorianus n. sp. — Der zweite Schädling (Conchylis epiliana) hat drei Generationen; sie hat zwei Hymenopteren als Feinde. — Die Erdflöhe Aphthona euphorbiae Schr. und Aph. flaviceps All. überfallen im Frühjahr die noch zarten Flachspflänzchen und verwüsten die Felder ganz. Der zweite Floh lebt auch auf Malva neglecta Wallr. Die biologischen Daten werden gegeben. — Die minierende Larve von Phytomyza geniculata Macqu. befällt die Flachsblätter. — Die Wurzeln werden oft von Larven diverser Tenebrioniden und Elateriden befallen. — All die genannten Schädlinge werden genau beschrieben.

Matouschek (Wien).

Torka, Pogonochaerus fasciculatus De Geer. (Zeitschr. f. Forst- und Jagdwesen. 1907. Heft 10.)

Verf. beschreibt die bisher unbekannte Larve und Puppe des Kiefernzweigbockes. Es folgen dann Mutmaßungen über die Zahl der Generationen des Schädlings, gegen den ein Erfolg versprechendes Abwehrmittel zur Zeit noch nicht bekannt ist. Ehrenberg (Breslau).

Weissenberg, Richard, Zur Biologie und Morphologie einer in der Kohlweißlingsraupe parasitisch lebenden Wespenlarve (Apanteles glomeratus [L.] Reinh.). (Sitzungsber. der Gesellsch. naturforsch. Freunde zu Berlin. 1908. No. 1. p. 1—18. Mit 9 Textfig.)

Uns interessieren hier nur folgende Resultate:

1) Die charakteristische Schwanzblase der Wespenlarven ist der prolabierte Enddarm, welcher sich rückstülpt und dann den Enddarm bildet.

2) Die Schwanzblase ist ein Atmungsorgan; die Tracheen des Tieres sind bis knapp zur Ausschlüpfungszeit nicht funktionsfähig.

Matouschek (Wien).

Konow, Fr. W., Ueber die Ausbeute der russischen Polarexpedition an Blattwespen im arktischen Sibirien. (Mém. de l'acad. impér. des sc. de St. Pétersbourg. Sér. 8. Classe physicomathém. T. XVIII. 1907. No. 3. 28 p. Mit 1 Taf.)

Es kommen namentlich Tenthrediniden vor, und zwar solche, deren Larven nicht auf Baumlaub angewiesen sind. Die Larven der Chalastogastra sind auf Pflanzennahrung angewiesen, daher kann diese Gruppe nur soweit nordwärts leben, als ihre Futterpflanzen die nördliche Baumgrenze überschreiten. — Außer der genauen Beschreibung einiger weniger neuen Arten wird eine treffliche Uebersicht der paläarktischen Gat-

tungen der Tribus Nematides und der paläarktischen Arten der Gattungen Pontania und Amauronematus mitgeteilt.

Matouschek (Wien).

Hennings, C., Experimentell-biologische Studien an Borkenkäfern. III. (Naturw. Zeitschr. f. Forst- u. Landwirtschaft. 1908. Heft 4. p. 209.)

Verf. gibt einige kleine Beiträge zur Generationsfrage der Borkenkäfer und über die Borkenkäfersaison 1907.

1) Eccoptogasterides. Mit Ausnahme von Eccoptogaster ratzeburgi Janson scheinen die Eccoptogastriden mehr als eine Generation im Laufe eines Jahres erzeugen zu können, sie sind aber von klimatischen Verhältnissen sehr stark abhängig (sehr wärmebedürftig); die Zeit des Anfluges kann sich erheblich verschieben.

2) Hylesinides. Hylesinus fraxini und oleiperda zeigen langsame Entwickelung und geringe Abhängigkeit von äußeren Verhältnissen, und geben nur eine Generation, H. crenatus ist von der Temperatur abhängig und vermag unter sehr günstigen Bedingungen zwei Generationen zu erzeugen. Die Jungkäfer von Myclophilus piniperda L. bedürfen stets eines außerhalb der Geburtsstätte ausgeführten Nachfraßes, der unter ungünstigen Verhältnissen die ganze Zeit bis zum Uebergang in die Winterruhe dauern kann, bei günstigen Verhältnissen aber auf 2 Wochen beschränkt sein kann. Sie vermögen also nicht, wie z. B. die Jungkäfer von Typographus, ihre Genitalien an der Geburtsstätte sofort zur Reife zu bringen.

3) Ipides. Es werden Beobachtungen mitgeteilt über Cryphalus piceae Rtzbg., Pityophthorus micrographus Gyll., Pityogenes bidentatus Hbst., P. chalcographus L., Ips typographus L., I. stenographus Duft, I. acuminatus Gyll., I. curvidens Germ. Für alle, besonders für Ips typographus L., gilt mehr oder minder die Tatsache, daß sie in Anflug, Legezeit, in der Dauer der einzelnen Entwickelungsstadien etc., überhaupt in der Zahl der Generationen von äußeren, namentlich klimatischen Verhältnissen abhängig sind.

A. Eichinger (Halle a. S.).

Molz, Ueber eine durch Spilosoma lupricipeda L. am wilden Wein (Ampelopsis quinquefolia) hervorgerufene Beschädigung. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XVIII. 1908. Heft 2.)

Verf. beschreibt einen Schädling, Spilosoma lupricipeda L., auf Ampelopsis quinquefolia. Die Raupe tritt nur als gelegentlicher Wundparasit bei Hagelbeschädigungen und dergl. auf.

Schaffnit (Bromberg).

Passerini, N., Su di un idrato di carbonio contenuto nelle galle dell'olmo. (Gazzetta chimica. Vol. XXXVII. 1. Sem. 1907. 6 p.)

Der die Rustergallen von Schizoneura Ulmi erfüllende Schleim besteht hauptsächlich aus einem Dextran. E. Pantanelli (Rom).

Grevillius, A. Y., und Niessen, J., Sammlung von Tiergallen und Gallentieren, insbesondere aus dem Rheinlande. (Arb. des Rheinischen Bauernvereins. 1905/08. Lief. 1—3. No. 1—75.)

Jede Lieferung enthält 25 Stück. Jedes Stück stellt eine schön präparierte Gallenbildung vor mit naß präparierten Erzeugern; doch sind oft auch die Entwickelungsstadien beigegeben mit erläuternden Zeichnungen oder Photographieen. Die Kartons sind 30×40 cm groß. Der begleitende Text gibt die Beschreibung, die Mitteilung über Verbreitung

und Bekämpfung und den Literaturnachweis sehr genau an. Es werden dabei auch die Exsikkate aufgezählt. Einige Nummern aus der 3. Lieferung greifen wir heraus: Tylenchus devastatrix Kühn (Helminthocecidium) auf Avena sativa, Eriophyes macrochelus Nalepa auf Acer campestre L., Aphis cerasi Schrank auf Prunus spinosa L., Trioza alacris Flor auf Laurus nobilis (Hemipterocecidium). Matouschek (Wien).

Mariani, Giuditta, Secondo contributo allo studio della cecidologia Valdostana. (Atti della Società Italiana di scienze naturali e del museo civico in Milano. Vol. XLVI. 1908. Fasc. 4. p. 289—323. Mit 5 Fig.)

Eine Anzahl bisher noch nicht bekannter Cecidien wird beschrieben, manche werden auch abgebildet. Die Arbeit ist eine Ergänzung und Fortsetzung des 1. Beitrages, der unter gleichem Titel im Boll. Soc. la flore valdôtaine. No. 4. Aosta 1907 erschienen ist. Der Index bezieht sich auf beide Beiträge. Matouschek (Wien.)

Seitner, M., Die Fichtensamengallenmücke (Plemeliella abietina). (Centralbl. für das gesamte Forstwesen. Jahrg. XXXIV. 1908. p. 185—190. Mit 13 Textabb.)

Die neue Gattung, zu Ehren des krainischen Botanikers P. Valentin Plemel gewidmet, ist durch folgende Merkmale ausgezeichnet: 4-gliedrige Taster, einfache Krallen an allen Füßen, Haftballen in Einzahl und die Krallen überragend; beim Männchen durchweg gleichartig gebildete Fühlerglieder; viele Papillen am Larvenkörper. Verwandt ist das Genus mit den von Kieffer aufgestellten Gattungen Cryptodiplosis und Harmandia. — Folgende biologischen Daten werden hier angegeben: Das erwachsene, kurzlebige Tier lebt in den oberen Kronenpartieen blühender Samenbäume. Die Eier werden zwischen die zarten, fleischigen Teile der Samenschuppen hineingelegt; die kleinen Larven arbeiten sich direkt in die noch jungen Samenanlagen hinein. Mit der Entwickelung des Samens hält auch jene der Larve gleichen Schritt. Im folgenden Frühjahr gelangen die Samen auf die Erde, in der sich die Larve weiter entwickelt. Die Verpuppung geschieht meist im Samen. Nach 18-tägiger Puppenruhe kommt die Mücke früh am Tage zum Vorscheine. Die Entwickelungsstadien des Schädlings werden auch in Details abgebildet. Die Verbreitung der Mücke dürfte eine große sein, da Verf. Samen verschiedener Provenienz untersuchen konnte; 3 bis 20 Proz. waren stets von der Larve befallen. Von gesunden Samen sind die befallenen leicht zu unterscheiden. — Verf. beschrieb 1906 in den Verhandlungen der k. k. zool.-botan. Gesellschaft in Wien unter dem Titel: „Resseliella piceae, die Tannensamengallmücke“, die erste Gallmücke, deren Entwickelung in einem Nadelholzsamen genau verfolgt werden konnte. Beide Tiere konnten um Idria genau studiert werden. Matouschek (Wien).

Ugrenović, Alexander, Ueber einige Angriffe der Vögel auf Pflanzengallen. (Centralbl. für das gesamte Forstwesen. Jahrg. XXXIII. 1907. Heft 12. p. 529—531.)

Die Aehnlichkeit der größeren Gallen mit Früchten (z. B. Dryophanta folii) verleitet die Vögel dazu, Pflanzengallen anzugreifen. Auch solche Gallen werden angegriffen, die nur eine sehr geringe oder gar keine Aehnlichkeit mit Früchten besitzen. Bei Cynips hungarica, calicis und Kollari konnte Verf. zeigen, daß der hohe Gerbstoffgehalt

die Gallen nicht schützt, der Vogel holt sich die Larve heraus. Spechtarten waren es, die senkrecht auf die Achse der Gallen ein Loch einhackten, um zur Insektenlarve zu gelangen. Die Gallen lagen entweder auf der Erde oder waren in Rindenrisse eingeklemmt. — Von einem unbekannten Vogel wurden auch an den Zweigen sitzende Gallen bearbeitet und entleert. Matouschek (Wien).

Krawkow, Untersuchungen auf dem Gebiete des Studiums der Ursachen des Absterbens der künstlichen Waldanpflanzungen in der Steppe. (Journal f. experimentelle Landwirtschaft. Bd. IX. 1908. Heft 1.)

Verf. kann sich zunächst auf Grund seiner Untersuchungen nicht der Meinung anschließen, daß die Hauptursache für das Eingehen künstlicher Waldanpflanzungen auf Steppenböden ein zu hoher Salzgehalt des Bodens sei. Im Gegenteil lassen seine Boden- und Untergrunduntersuchungen vermuten, daß eine der möglichen Ursachen des Eingehens künstlicher Anpflanzungen in einem gewissen Alter dort in dem äußerst geringen Gehalt von assimilierbarer Phosphorsäure und Stickstoff, zum Teil auch von Kali, in den tiefen Schichten des Bodens liegt.

Die Ursache für dieses auffällige Verarmen tieferer Bodenschichten an Pflanzennährstoffen bildet nun wieder das Wachstum und die Nährstoffaufnahme durch die Waldbäume selbst, in Verbindung mit unzureichender, nicht bis zum Grundwasser gehender Durchfeuchtung des Waldbodens. Im letzten Ende würde also ein klimatischer Faktor, zu geringer Regenfall, die Ursache bilden.

Der fragliche Vorgang vollzieht sich nach Verf. derartig, daß der Wald alljährlich dem Boden eine ungeheuere Menge von Pflanzennährstoffen entzieht, und diese zum Teil in seinem Laubwerk anhäuft. Das abfallende Laub bringt diese Stoffe auf den Boden, wo sie vermodern, und ihr Gehalt an Pflanzennährstoffen zum sehr erheblichen Teil in den Boden ausgewaschen wird. Fehlt nun infolge mangelnder Niederschläge, oder zu tiefen Grundwasserstandes, eine genügende Durchfeuchtung des Bodens, so wird diese Auswaschung der Pflanzennährstoffe nicht weit in den Boden hineindringen können, es werden also nur verhältnismäßig oberflächliche Bodenschichten mit Nährstoffen aus dem abgefallenen Laub versorgt, nicht aber die tieferen Schichten, in denen eigentlich die Wurzeln der Bäume wachsen. Die letzteren Schichten des Bodens verarmen somit mehr und mehr und können zuletzt nicht mehr die Bäume ernähren. In Uebereinstimmung hiermit steht, daß dort, wo ein höherer Grundwasserstand vorhanden ist, z. B. bei Bodensenkungen, auch Waldvegetation möglich erscheint. Ehrenberg (Breslau).

Sorauer, Beitrag zur anatomischen Analyse rauchbeschädigter Pflanzen. II. (Landwirtschaftl. Jahrbücher. 1908. Heft 5.)

Verf. wendet sich zunächst den Verhältnissen bei der Fichte zu, dem Baume, bei dem sich die Einflüsse sauerer Gase am schärfsten bemerkbar machen. Bei mikroskopischen Beobachtungen nun muß als Grundlage einmal die individuelle Reaktionsfähigkeit gegenüber den Raucheinflüssen, weiter vor allem aber die Kenntnis der Veränderungen angesehen werden, welche die gesunde Nadel im Laufe ihrer Entwickelung durchläuft, und dann die Einflüsse, welche durch Wachstumsstörungen infolge ungünstiger Witterungs- und Standortsverhältnisse sich geltend machen. Auf dieser Grundlage bespricht Verf. zunächst die anatomischen Veränderungen der normalen Fichtennadel vom Jugend-

stadium bis zum natürlichen Tode, dann die natürliche Veränderung der normalen Nadel, das Sterben durch Frost, und die Folgen von Verdunkelung, Trockenheit, Sonnenbrand, Unter-Wasser-Stehen der Bäume. Es folgt Besprechung der Verhältnisse, die bei Resinose, krankhaftem Harzerguß, und Fumagobefall eintreten.

Was nun die eigentlichen Veränderungen durch industrielle Einflüsse anbetrifft, so wird nun auf die Schädigungen durch

schweflige Säure, ihre Besonderheiten und Erkennungszeichen, sowie die in Betracht kommenden Verwechslungsmöglichkeiten, dann auf die Erscheinungen bei

Waldbrand, welchen den dann behandelten durch Einwirkung von

Ammoniak teilweise ähneln, endlich noch auf die Folgen von Vergiftung durch

Salzsäuregas, Brom, Fluorwasserstoff und Asphaltdämpfe eingegangen. Im besonderen werden die am häufigsten sich geltend machenden Unterschiede der akuten Beschädigungen durch Salzsäure und schweflige Säure sowohl für frisch beschädigte, wie für ältere, bereits seit längerer Zeit gerötete Nadeln zusammengestellt.

Zum Schluß hebt Verf. noch hervor, daß es ihm, im Gegensatz zu den Anschauungen anderer Forscher, nicht ratsam erscheint, auf die mikroskopische Analyse allein gestützt ein Urteil über Rauchbeschädigungen abzugeben. Ebensowenig erscheint es ihm allerdings zulässig, dem Chemiker allein die Beurteilung zu überlassen. Nur durch gemeinsame Tätigkeit des Botanikers und Chemikers kann zufriedenstellende Sicherheit erzielt werden. Denn die Größe des Schadens, der durch Rauchgase verursacht wird, hängt nicht direkt von der Menge der aufgenommenen Gifte ab, sondern einmal von der Art ihrer chronischen oder akuten Einwirkung, dann vom Entwickelungs- und Ernährungszustande der Pflanzen selbst, und schließlich auch noch von Witterungs- und Standortsverhältnissen.

Auch für die Probenahme ist in mehrfacher Beziehung größte Aufmerksamkeit nötig, um Täuschungen und Trugschlüsse zu vermeiden. Es dürfen einjährige Nadeln nicht mit zweijährigen, Zweige aus dem Schatten nicht mit der Sonne ausgesetzten verglichen werden.

Schließlich befürwortet Verf. zur Beförderung gütlicher Einigung in Raubhschädigungsprozessen durch Darbietung eines auch dem Laien erkennbaren Einblicks in den Umfang der Schädigung ein Verfahren, das er als „Fangpflanzenbau“ bezeichnet. Es sollen in die rauchgeschädigten Felder größere Holzkästen mit Erde von zweifellos rauchsicherer Herkunft versenkt werden, und ebenso in notorisch rauchsichere Felder Kästen mit Erde der rauchgeschädigten Felder. Die Kästen werden dann mit Bohnen in gleicher Weise besäet, und nach einer Reihe von Wochen beerntet, um chemisch und mikroskopisch untersucht zu werden.

Die Befürwortung des schon früher vom Verf. gemachten Vorschlages, für begrenzte Bezirke, z. B. die einzelnen Provinzen, ständige Rauchkommissionen zu bilden, schließt die beachtenswerte Veröffentlichung. Ehrenberg (Breslau).

Gerlach, Besondere Vorkommnisse und Beobachtungen bei Waldbeschädigungen durch Rauchgase. (Zeitschr. f. Forst- und Jagdwesen. 1908. Heft 7.)

Verf. bespricht im Anschluß an ähnliche Mitteilungen von anderer Seite die erheblich größere Empfindlichkeit, welche nach seinen Beobachtungen die Tanne den Einwirkungen der schwefligen Säure gegenüber

aufwies, im Vergleich zur Fichte. Zwischen dem völligen Absterben von Tannen und dem Sichtbarwerden einer Rauchschädigung an noch dazu vorgelegenen Fichten vergingen in einem Falle 5 Jahre. Das Vernichtungswerk wird in fraglichen Fällen übrigens in ganz unverkennbarer Weise infolge Befallenwerdens der rauchkranken Tannen durch Pissodes piceae beschleunigt. Ebenso auffallend, wie hier die größere Empfindlichkeit der Tannen — wegen der längeren Lebensdauer ihrer Nadeln — gegen die chemischen Rauchschäden und besonders gegen schweflige Säure, der Fichte gegenüber hervortritt, kann auch der Einfluß der Geländebildung auf die Luftströmungen bezw. Windrichtungen nachgewiesen werden. Es werden dann hierzu zwei Beispiele mit Plänen gegeben.

Endlich bespricht Verf. noch ein von ihm neben anderen charakteristischen Merkmalen für Rauchschädigung bereits früher erwähntes Beweismittel an der Hand einer neuen, weiteren Bestätigung. Es handelt sich um die abweichende Lebensweise der beiden Fichtenharzkäfer Pissodes harzyniae und scabricollis in rauchkranken Stämmen, wobei äußerlich erkennbare Larvenfraßgänge gebildet werden.

Ehrenberg (Breslau).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Höft, Beiträge zur chemischen Unterscheidung des Labgerinnsels vom Sauermilchgerinnsel. (Milchwirtschaftliches Zentralblatt. 1908. Heft 8.)

Verf. hebt zunächst hervor, daß zur Unterscheidung des Labgerinnsels vom Sauermilchgerinnsel der verschiedene Säuregehalt nur kurze Zeit nach der Gewinnung verwendet werden kann. Nach einigen Ausblicken auf anderweitige Unterschiede weist Verf. darauf hin, daß die Menge und Zusammensetzung der Asche viel deutlichere und sichere Unterscheidungsmerkmale bieten muß; denn bei der Dicklegung durch Lab verbleiben sowohl die in der Milch ungelöst vorkommenden Salze wie der mit dem Kaseïn verbundene Kalk im Gerinnsel, während bei der Gewinnung durch Säure die Mehrzahl dieser Aschenbestandteile in lösliche Stoffe umgewandelt und in die Molke übergeführt werden. Verf. führt dann verschiedene Literaturdaten an, aus denen er noch hervorhebt, daß neben dem Gehalt an Gesamtasche namentlich der Kalk- und Phosphorsäuregehalt charakteristische Merkmale bieten müssen.

Nachdem weiter die Methodik der durchgeführten Versuche beschrieben worden, folgt die Aufführung der Ergebnisse, welche die obigen Schlüsse im wesentlichen bestätigen. Es sei aus den Schlußfolgerungen noch erwähnt, daß

1) wahrscheinlich auch die Temperatur einen Einfluß auf die Aschenmenge und die Zusammensetzung der Asche des Gerinnsels ausübt;

2) Aschenmenge und Kalkgehalt des Labgerinnsels von denen des Sauermilchgerinnsels deutlich verschieden sind. Zur genaueren Charakterisierung der Verhältnisse sind die Mengen mit der fettfreien Trockenmasse oder dem Stickstoffgehalt zu vergleichen;

3) falls die Dicklegung der Milch durch vereinte Wirkung von Lab und Säure erfolgt, das Gerinnsel Uebergangsmerkmale zwischen Labgerinnsel und Säuregerinnsel zeigt.

Ehrenberg (Breslau).

Oppenheimer, S., Weiteres zur Schardingerschen Reduktionsprobe. (Arb. a. d. Inst. f. experim. Therapie. Frankfurt a. M. 1908. Heft 4.)

Sämtliche untersuchten, frisch ermolkenen 18 Milchproben, die von 16 Kühen stammten, ergaben die Schardingersche Reaktion bei 50° innerhalb 15 Minuten, davon 15 innerhalb 10 Minuten. Zwischen Keimzahl und Reaktionsgeschwindigkeit bei 50° bestand keinerlei Parallelismus. Die überwiegende Mehrzahl der Proben war als sehr keimarm, einzelne als fast steril zu bezeichnen. — Die 70°-Reaktion trat bei Untersuchung von 6 Kühen 5mal innerhalb $7^1/_4$ Minuten auf, einmal bei einer Kuh, die erst 2 Monate vorher gekalbt hatte, auch in 32 Minuten noch nicht komplett. Auch bei der 70°-Reaktion war kein Parallelismus mit der Keimzahl nachweisbar.

Die ersten Strahlen, die verhältnismäßig keimreich — und bekanntlich fettarm — sind, ergaben in den zwei untersuchten Fällen erheblich langsamere Reaktion als die mittleren Strahlen. Es ist dies wohl auf die schon von Smidt gefundene Abhängigkeit des Reduktionsstoffes vom Fett zurückzuführen. Es muß nach alledem daran festgehalten werden, daß die Schardingersche Reduktionsprobe der frisch ermolkenen Milch von einem Stoffe herrührt, der mit den Milchbakterien nichts zu tun hat. Diesen originären Reduktionsstoff hat Smidt Aldehydkatalase genannt. Die originäre Aldehydkatalase ist von den direkten bakteriellen Reduktasen streng zu unterscheiden. Hetsch (Metz).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Resenscheck, F., Einwirkung des elektrischen Stromes auf den Hefepreßsaft. (Biochem. Zeitschr. Bd. IX. p. 255.)

Verf. untersuchte, ob das als Hydrosol aufzufassende Gärungsenzym des Hefepreßsaftes bei der Durchleitung eines elektrischen Stromes Wanderungserscheinungen zeige. Er verwandte einen Strom von 0,042 Amp. bei 110 Volt Spannung. Durch Eiskühlung wurde die Temperatur unter 6° gehalten. Während der Durchleitung traten an den Polen Sauerstoff und Wasserstoff auf. Gleichzeitig fiel ungefähr die Hälfte des Eiweißes in koaguliertem Zustande aus, während die Wirksamkeit erst nach längerer Durchströmung abnahm. Nach Beendigung des Versuches wurden beide Hälften des in einem U-Rohr befindlichen Saftes auf ihre Wirksamkeit untersucht. Es zeigte sich stets eine Zunahme der Gärkraft am negativen, eine Abnahme am positiven Pol. Möglicherweise beruht diese Erscheinung auf der Elektrolyse der Salze und der Anreicherung von basischen Jonen am negativen Pol; denn die begünstigende Wirkung von Alkali auf die Gärung ist schon länger bekannt. Um zu entscheiden, ob die Zunahme der Gärkraft am negativen Pol etwa auf ein Wandern des Co-Enzyms zurückzuführen ist, wurde Kochsaft der Elektrolyse unterworfen. In der Tat war an der Kathode mehr Co-Enzym nachzuweisen als an der Anode, doch weniger als im nicht elektrolysierten Saft; es war also ein Teil des Co-Enzyms zerstört worden. Bei Fällungsversuchen mit Kolloiden ergab sich, daß durch Ferrihydroxyd die Co-Enzymwirkung des Kochsaftes fast ganz aufgehoben, durch elektronegatives Antimontrisulfid nur wenig beeinträchtigt wurde. Kurt Meyer (Berlin).

Richet, Charles, Ueber die Wirkung schwacher Dosen auf physiologische Vorgänge und auf die Gärungen im besonderen. (Biochem. Zeitschr. Bd. XI. 1908. p. 273.)

Metallsalze (Platin, Thorium, Baryum, Kobalt, Vanadium, Mangan, Lithium) wirken in geringerer Verdünnung hemmend, in höherer (0,0001

bis 0,00001 g pro Liter) bescheunigend auf die Milchsäuregärung. Nach weiterer Verdünnung macht sich eine sekundäre Verzögerung und schließlich bei Verdünnungen von 0,0000001 pro Liter eine sekundäre Beschleunigung bemerkbar. Verf. glaubt, daß die sekundäre Verzögerung und Beschleunigung nicht mehr durch die chemische Wirkung der Metallsalze, sondern durch Wirkungen physikalischer Art hervorgerufen werden. Er denkt daran, daß sich die Materie in elektrische Kräfte oder Elektronen verwandelt und will Anhaltspunkte für diese Hypothese darin gefunden haben, daß er aus äußerst stark verdünnten Silbernitratlösungen einen Teil des Silbers verschwinden gesehen zu haben glaubt.

Kurt Meyer (Berlin).

Weigmann, Die hygienische Beurteilung der Pasteurisierapparate des Molkereigewerbes. (Milchwirtsch. Centralbl. 1907. p. 538.)

Wenn als Maßstab für eine erfolgreiche Pasteurisierung die sichere Abtötung der Tuberkelbacillen gelten kann, so ist eine solche nach den bisherigen Erfahrungen zu erreichen:

a) durch eine kurzdauernde Erhitzung auf eine Temperatur von allermindestens 85—90° C und darüber und

b) durch eine andauernde einstündige Erhitzung auf 65—68° C.

Bei umfangreichen Prüfungen, welche einerseits von Tjaden, Koske und Hertel andererseits vom Verf. mit Pasteurisierapparaten verschiedener Firmen durchgeführt wurden, konnte festgestellt werden, daß selbst bei Apparaten, in welchen die Höchsttemperatur nur wenige Sekunden anhält, eine vollständige Abtötung der Tuberkelbacillen erzielt wird. Die Untersuchung der in der Milch verbliebenen Organismen wies allerdings darauf hin, daß man mit diesen Apparaten an der Grenze des Erlaubten in bezug auf die Beschränkung der Erhitzungsdauer angekommen ist. „Für die Benutzung von Rückkühlerhitzern mit momentaner Erhitzung ist es daher unbedingtes Erfordernis, daß die Erhitzung nicht nur auf 85—90° C, sondern auf 95° C und darüber getrieben werde. Namentlich mit Rücksicht auf eine eventuelle ungenügende Abtötung der Krankheitskeime muß sich die Praxis des Molkereiwesens selbst die Regel vorschreiben, daß eine niedrigere Erhitzung als auf 90° C bei Benutzung von Pasteurisierapparaten für den kontinuierlichen Betrieb und eine niedrigere Erhitzung als auf 95° C bei Regenerativerhitzern unzulässig ist."

Die Nachteile der Pasteurisierung bei hohen Temperaturen (Kochgeschmack, schlechte Aufrahmung, Vernichtung der Milchenzyme, schlechte Verkäsungsfähigkeit) werden bei der niedrigen Pasteurisierung vermieden, bei welcher eine einstündige Erhitzung der Milch auf 65—70° C erfolgt. Dieses Verfahren verdient ohne Zweifel den Vorzug, und es ist dahin zu streben, die Molkereien und großen Milchhandlungen von der Hochpasteurisierung abzubringnn und sie mehr der Niedrig- oder Dauerpasteurisierung zuzuführen. Durch diese Behandlungsweise ist eine hygienische Verbesserung der üblichen Marktmilch zu erreichen.

Vogel (Bromberg).

Weiss, S., Melkgarnitur zur hygienischen Kindermilchgewinnung im kleinen. (Wiener med. Wochenschr. 1908. No. 12. p. 615 und No. 13. p. 678.)

Die Garnitur besteht aus einem verzinnten Metalltrichter, in den 2 Filtersysteme eingesetzt sind: ein rahmenförmiger Metallring, in sterile hydrophile Gaze eingehüllt, der als Vorfilter Kuhhaare und große

Schmutzteile zurückhalten soll, und eine Kombination eines Watte-Gazefilters mit einem Drahtsieb, am Boden des Trichters in einem Rahmen mit Bajonettverschluß eingelegt. An diesen Rahmen ist ein Milchverteiler von der Form eines gewölbt nach oben gerichteten Kugelabschnittes befestigt. Der Filterapparat wird in eine Milchkanne eingesetzt, die $1^1/_4$ l faßt, glattwandig und frei von Kanten und scharfen Ecken ist.

Die Kanne ist zylindrisch, in ihrer ganzen Länge von gleichem Durchmesser, trägt einen zirkulären Wulst (Sikke) zur Berührung mit dem Milchverteiler, hat einen ausgebauchten Boden ohne scharfen unteren Rand und kann mit einem eingepaßten Deckel unter starker Reibung verschlossen werden. Der zwischen Filter und Kannenmündung befestigte Milchverteiler leitet die vom Filter abfließende Milch gegen die Wände der Kanne.

Ein Kühlkübel von der Form eines Melkeimers dient zur Aufnahme der Kanne. Dadurch gelangt die einfließende Milch sofort mit der gekühlten Wand in Berührung. Zur Isolierung ist die Innenwand des Kühlkübels mit Korksteinplatten ausgekleidet. Eine Mischung von Eis, Salz und Salmiak dient zur Kälteerzeugung. Wo Eis fehlt, kann kaltes Wasser durch die seitlich angebrachten zwei Oeffnungen durchgeleitet oder durch häufiges Wechseln erneuert werden.

Der ganze Apparat hat ein Gewicht von 4 kg und wird von der Alfa-Separator-Gesellschaft hergestellt.

Nach den angestellten Versuchen ist der Apparat imstande, die eben gemolkene Milch innerhalb $^1/_4$ Stunde auf die vorgeschriebene Kühltemperatur von 10° C und darunter zu kühlen und diese Temperatur durch mehr als 12 Stunden zu erhalten.

Der handliche kleine Apparat vereinigt demnach die Methode der Filtrierung mit der Tief- und Dauerkühlung. A. Ghon (Wien).

Neisser, M., Ueber zwei Hausapparate zur Ozonisierung von Wasser. (Arb. a. d. Inst. f. experim. Therapie. Frankfurt a. M. 1908. Heft 4.)

N. beschreibt zwei einfache, an jeder Wasserleitung leicht anzubringende Ozonisierungsapparate, bei denen die Ozonerzeugung durch den Strom der Lichtleitung erfolgt und die Mischung des Ozons mit dem Wasser durch je eine besondere, am Wasserhahn angesetzte Saugdüse geschieht. Die Prüfung ergab, daß in Wässern, die nur geringe Mengen an organischen Stoffen und suspendierten Bestandteilen sowie an Eisen enthalten, bei inniger Mischung die momentane Berührung mit genügenden Mengen Ozon zur Keimtötung genügt. Der Keimgehalt der mit Staphylokokken bezw. Bact. coli versetzten Wasserproben sank nach kurzer Einschaltung des Ozons bei einem Wasserdruck von 2 Atmosphären von 43000 Keimen auf 2 Keime pro Kubikzentimeter usw.

Hetsch (Metz).

Tenax, ein neues Pflanzenschutzmittel. (Deutsche landw. Presse. Jahrg. XXXV. 1908. No. 36.)

Das Präparat besteht aus einem innigen Gemisch von Kupfersulfat (33 Proz.), Tonerdesulfat und Soda, das mit Wasser spritzfertige Kupfersodabrühe liefert. Durch den Gehalt an Tonerdehydrat soll die Flüssigkeit außerordentlich fest an dem Pflanzenteil haften.

Schaffnit (Bromberg).

Hiltner, Ueber die Verwendung des Karbolineums im Obst- und Weinbau und in der Landwirtschaft. (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz und Pflanzenbau. Jahrg. VI. 1908. Heft 5—6.)

Verf. bespricht die Wirkung verschiedener Karbolineum-Sorten und Konzentrationen als Bekämpfungsmittel von Schädlingen und Krankheiten im Obst- und Weinbau, von Unkrautpflanzen, und stellt auf Grund mehrjähriger Versuche fest, daß Karbolineum auch ein ausgezeichnetes Bodendesinfektionsmittel (zur Vernichtung von Bodenschädlingen und Unkrautsamen) ist. Als solches gelangt es nicht in Form von Emulsionen, sondern gemengt mit humosen Stoffen als streubare Mischung zur Anwendung. Ueber die Ergebnisse der bereits in die Wege geleiteten Versuche soll später berichtet werden.

Schaffnit (Bromberg).

Loew, W., Bemerkungen zur Giftwirkung von Hydroxylamin und Hydrazin. (Chemikerzeitung. 1907. No. 2.)

Die Arbeit wendet sich gegen Raciborski, welcher glaubte, daß die genannten Stoffe keine Gifte für Schimmelpilze sind. Verf. weist nämlich nach, daß schon 0,1 Proz. Hydrazinsulfat die Entwickelung von Penicillium in einer Nährlösung verhindere, welche 1 Proz. weinsaures Kalinatron als C-Quelle enthält. Raciborski experimentierte mit Rohrzucker, dem er die oben genannten Salze zufügte, aber nach Verf. darf man nicht vergessen, daß Rohrzucker leicht invertiert wird und daß dann die entstehenden Mengen Glukose und Fruktose leicht Hydroxylamin und Hydrosin zu Oxim resp. Hydrazon binden, welche Verbindungen gar nicht oder nur schwach giftig sind. Andererseits benutzt die lebende Zelle jede Zuckerart, um jedes eindringende Molekül Hydroxylamin oder Hydrazin zu Ammoniak zu reduzieren. Auf jeden Fall bleibt der Satz bestehen, daß die einleitend genannten Gifte allgemeine Plasmagifte sind. Matouschek (Wien).

Molz, Wirkung verschiedener Kupferpräparate und einiger anderer Pilzgifte auf die Blüte der Reben. (Mitt. über Weinbau und Kellereiw. Jahrg. XX. 1908. No. 6.)

Zu den Bespritzungsversuchen wurden folgende Mittel herangezogen: Kupfervitriolkalkbrühe 1-proz. und 2-proz., Kupfervitriolsodabrühe 1-proz., neutr. essigs. Kupfer 1-proz., Blitzpulverbrühe L'éclair von Vermorel-Villefranche 1-proz., krist. Azurin nach Mylius-Ulm (250 g auf 100 l H_2O), Kupferpräparat von Dr. Nördlinger 21a, 21b, 21c und 21d verstäubt, Nonnit von Strantz, Schwefelpulver „Ventilatio Trezza".

Ohne Schadenwirkung auf die Blüte blieb neben den Präparaten von Dr. Nördlinger nur die bekannte Kupfervitriolkalkbrühe. Sehr gering war diese bei Kupfervitriolsodabrühe und krist. Azurin. Neutr. essigs. Kupfer vernichtete $^2/_3$, L'éclair $^4/_5$ aller Blüten.

Schaffnit (Bromberg).

v. Tubeuf, Verwendung der Kupfermittel. (Naturwissenschaftl. Zeitschr. f. Forst- und Landwirtschaft. 1908. Heft 3—5, 7.)

Verf. gibt eine, vielfach mit eigenen Beobachtungen durchsetzte Darstellung der Erfahrungen über den Gebrauch der Kupferpräparate zur Bekämpfung von Pflanzenkrankheiten. Neben den Nutzwirkungen dieser Kupfermittel wird auch gelegentlich durch sie hervorgerufener Schädigungen gedacht, so der unter gewissen Witterungseinflüssen z. B. bei zartschaligen Früchten verursachten Oberhautschädigungen, auch „Korkrost" genannt. Ehrenberg (Breslau).

Jöbstl, V., Ein einfaches und billiges Mittel zur Bekämpfung der Nadelschütte. (Oesterr. Forst- und Jagdzeitung. Jahrg. XXVI. 1908. No. 30. p. 260.)

Mit bestem Erfolge verwendete Verf. die bekannte gegen Fusicladium dendriticum verwendete Lösung (2 kg $CuSO_4$ und 3 kg Kalk auf 100 l Wasser) gegen die von Lophodermium macrosporum befallenen Fichten. Matouschek (Wien).

Burmester, Vergleichende Untersuchungen über den Einfluß der verschiedenen Samenbeizmethoden auf die Keimfähigkeit gebeizten Saatgutes und über ihre pilztötende Wirkung. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XVIII. 1908. Heft 3. p. 154—187.)

Verf. suchte zuerst durch Keimversuche im Laboratorium, die im 1. Abschnitt der Arbeit besprochen sind, festzustellen, ob durch das Beizen eine Herabminderung der Keimenergie und Keimkraft des Saatgutes eintritt, ob ferner diese Herabminderung durch Verletzung des Kornes (Maschinendrusch) wesentlich erhöht wird und bei welcher Konzentration bezw. Temperatur des Beizmittels eine Depression der Keimfähigkeit einerseits ganz aufhört, andererseits so groß wird, das die Anwendung des Beizmittels in diesem Grade wirtschaftlich unmöglich wird. Durch entsprechende Feldversuche, über die der 2. Abschnitt berichtet, wurde dann die Wirksamkeit der verschiedenen Beizmethoden als Entbrandungsmittel geprüft.

Zum Vergleich zog Verf. folgende Beizmittel heran: Kupfervitriol, Schwefelsäure, Formaldehyd, Cerespulver, Pikrinsäure (als Reflorit), Heißwasser- und Heißluftbeize, und gelangte zu den nachstehenden Resultaten:

Die Kupfervitriolbeize ist in allen ihren Formen brauchbar, doch muß sie beim Maschinendruschweizen mit Vorsicht angewendet werden. Formaldehyd steht dem Kupfervitriol in keiner Hinsicht nach, verdient sogar aus Gründen praktischer Natur den Vorzug. Die übrigen Beizverfahren sind von der praktischen Anwendung auszuschließen. Schwefelsäure und Pikrinsäure sind in der zur Abtötung der Brandsporen erforderlichen Konzentration zu starke Gifte für die Getreidearten, Heißwasser- und Heißluftbeize zeigen nicht die erforderliche keimtötende Wirkung bei entsprechenden Temperaturen und bleiben weit hinter der Bedeutung zurück, die man ihnen in jüngster Zeit beigelegt zu haben scheint.

Bezüglich der Wirkung der verschiedenen Konzentrationen, Temperaturen usw. sowie einiger biologischer Beobachtungen sei auf die Originalabhandlung verwiesen. Schaffnit (Bromberg).

Jordi, E., Versuch zur Bekämpfung des Steinbrandes des Weizens. (Jahresber. der landwirtschaftl. Schule Rütti [Bern] für das Schuljahr 1906/07. p. 103.)

Zu diesem Versuche diente ein frühreifender Winterweizen mit sehr zahlreich anhaftenden Steinbrandsporen. Die Prüfung erstreckte sich auf Bordeauxbrühe 2 Proz., Kupfervitriol $^1/_2$ Proz., Formalin 1 Prom. und Wasser von 56° C. Bei der Ernte ergaben sich je nach Behandlung 33—173 brandige Aehren, während der Kontrollversuch mit nicht gebeiztem Getreide deren 1237 aufwies. Die Beizmethode mit Kupfervitriol $^1/_2$ Proz. erscheint vorläufig als die empfehlenswerteste.

Schneider-Orelli (Wädenswil).

Kühle, L., Ein erfolgreicher Versuch zur Bekämpfung des Gerstenflugbrandes. (Deutsche landw. Presse. XXXV. Jahrg. 1908. No. 68.)

Nachdem die zur Bekämpfung des Steinbrandes angewandte Methode

der Heißluftbeize (staffelförmige Trocknung) durch Versuche, die Verf. im Verein mit Appel ausführte, sich als erfolgreich erwiesen hatte, wurde versucht, sie auch zur Abtötung des Flugbrandmycels anzuwenden. Während für Gerste die Heißluftmethode einen glänzenden Erfolg hatte, so daß Verf. die Frage der Bekämpfung des Gerstenflugbrandes als gelöst ansieht, waren die Ergebnisse für Weizen weniger günstig.

Die Versuchsgerste ertrug Temperaturen bis 90° C, Weizen bis 110° C, ohne an Keimfähigkeit einzubüßen.

Eine ausführliche Beschreibung der Versuche soll demnächst erfolgen. Schaffnit (Bromberg).

Laubert, Rostpilze vertilgende Mückenlarven. (Deutsche landw. Presse. 1907. p. 618.)

Verf. beobachtete das häufige Auftreten von kleinen, roten Maden auf rostbefallenen Pflanzen der verschiedensten Standorte und schloß daraus auf bestimmte Beziehungen zwischen der Made und dem Rostpilz. In der Tat geht aus der stets erkennbaren Zerstörung der Rostpilzlager bei Gegenwart der Maden hervor, daß erstere den an und auf ihnen sitzenden Maden als Nahrung dienen. Im Darmkanal solcher Maden sind zahllose orangerote Fett- oder Oelkügelchen enthalten, welche aus den Rostpilzen stammen, denn es ist bekannt, daß in Sporen und Mycel der Uredineen solches Oel vorkommt.

Die Maden verpuppen sich an den rostbefallenen Blättern und erzeugen dazu ein flaches, weißes Gespinst. Aus der kleinen, gelbroten Mumienpuppe schlüpft nach kurzer Zeit ein Insekt hervor, das zu der Ordnung der Dipteren, und zwar zu der Familie der Cecidomyiden gehört.

Es ist ohne Zweifel von Wichtigkeit, daß die verschiedensten Rostpilzarten in den Larven einer Mückenart einen außerordentlich häufigen natürlichen Feind besitzen. Vogel (Bromberg).

Causemann, Etwas zur Bekämpfung der Kartoffelkrankheit. (Deutsche landw. Presse. 1907. No. 89.)

Verf. sieht in der Erhaltung eines gesunden, keimfähigen Saatgutes das beste vorbeugende Mittel gegen die Kartoffelkrankheiten. Schon bei der Ernte werden aber häufig bedauerliche Fehler gemacht. Durch zu hohes Aufschichten und zu kurz bemessene Ablagerung der frisch geernteten Kartoffeln, besonders aber durch falsches, unzweckmäßiges Einkellern wird das Saatgut erheblich geschädigt. Große Kartoffelvorräte werden nicht selten in zu kleinen, warmen, sorgfältig von der Außenluft abgeschlossenen Kellerräumen aufeinandergetürmt, als Folge davon tritt Erhitzung und Nachlassen der Lebens- und Keimkraft der Kartoffeln ein. Pflanzkartoffeln sollten daher im Freien und in richtiger Weise eingemietet werden. Auch das sofortige Auslegen zerschnittener Kartoffeln muß als bedenklich gelten, weil solche Kartoffeln sehr leicht der Fäulnis anheimfallen. Verf. zieht aus seinen eigenen Erfahrungen den Schluß, daß bei einem widernatürlichen Aufbewahren der Pflanzkartoffeln auch die beste Sorte mit Notwendigkeit geschwächt und zur Degeneration gebracht wird, daß hingegen ein naturgemäßes Einkellern oder Einmieten die Keimkraft in hohem Grade zu bewahren und dadurch gegen die Kartoffelkrankheit am besten zu schützen vermag.

Vogel (Bromberg).

Hansen, Emil Chr., Ueber die tötende Wirkung des Aethylalkohols auf Bakterien und Hefen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLV. 1907.)

Die Veranlassung der vorliegenden Abhandlung gaben die Studien

des Verf. über nässendes Ekzem und die darin auftretenden Bakterien. Verf. hatte nämlich bei dieser Krankheit eine Nachbehandlung mit Alkohol im 2. Stadium der Krankheit unternommen und dadurch vorzügliche Resultate bekommen, indem eine gesunde und normale Hautbildung wieder hervorgebracht wurde, und zwar in solchen Fällen, wo andere Behandlungen versagten.

In betreff der Literatur über die Einwirkung des Alkohols auf Bakterien, weist Verf. auf eine Abhandlung von Russ hin (diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. 1904).

In dem 2. Abschnitte der vorliegenden Abhandlung werden die Resultate der Einwirkung des Aethylalkohols auf die auf der Haut allgemein auftretenden Bakterien („Hautbakterien") und auf die Bakterien sowohl aus angehenden Stadien als auch aus späteren Entwickelungsstufen der nässenden Ekzemformen („Ekzembakterien") mitgeteilt. Diese Untersuchungen gehören aber der medizinischen Bakteriologie zu und sollen deshalb hier nicht näher erörtert werden.

Der 3. Abschnitt enthält die Versuche des Verf. mit zwei Formen von der Bact. coli-Gruppe und mit einer Essigsäurebakterie, Bact. Pasteurianum. Wenn frühere Forscher zu widersprechenden Resultaten rücksichtlich der Einwirkung des Aethylalkohols auf Bakterien gelangt sind, so sind die von ihnen benutzten Methoden die Ursache, indem dieselben nicht dem Alkohol erlaubten, auf die einzelne Zelle einzuwirken. Besonders die Darstellung von Eintrocknungspräparaten bietet große Schwierigkeiten dar. Frühere Verff. wandten in der Regel Seidenfäden an, auf welche die Kulturen eingetrocknet wurden; aber durch diese Behandlungsweise gelangen die Zellen in dicke Schichten, so daß die inneren Zellen nicht beeinflußt werden. Auch die Schleimeinhüllungen der Bakterien können unter diesen Umständen eine ähnliche Rolle spielen.

Verf. zeigt jetzt, daß das bisher allgemein benutzte Verfahren unanwendbar ist, wenn man die Frage aufwirft, wie die einzelne Zelle sich verhält. Er hat deshalb für seine Versuche dieselbe Methode angewandt, die er vor mehreren Jahren bei den Versuchen mit eingetrockneten Hefezellen benutzte. Die Eintrocknung nahm er nämlich auf Platindrahtstücken vor, welche 0,7 mm dick und 0,6 mm lang sind. Sie werden in die betreffenden Vegetationen in stark verdünntem Zustande eingetaucht und jedes Drahtstück wird danach in ein leeres, sterilisiertes Freudenreich-Kölbchen gebracht, welches dann mehrmals nach allen Richtungen hin geschüttelt wird, so daß die Zellen über die Seiten und den Boden des Glases gut verteilt werden und nur sehr wenige an dem Platinstück zurückbleiben. Die Kölbchen mit den Drahtstücken werden darauf in einen dunklen Schrank bei gewöhnlicher Zimmertemperatur gestellt und jedes Kölbchen liefert Material für zwei Versuche, indem das Drahtstück nach beendetem Eintrocknen in ein Kölbchen mit der betreffenden Alkoholmischung übertragen, und Alkohol von gleicher Stärke zu dem Kölbchen, aus welchem das Drahtstück herausgenommen ist, gesetzt wird. Nachdem die Alkoholmischung ihre Wirkung durch die fortgesetzte Zeitdauer ausgeübt hat, werden die Zellen in Nährflüssigkeit übertragen. Durch diese scharfe Methode konnte Verf. die einzelne Zelle beeinflussen, und er gelangte deshalb zu ganz anderen Resultaten als seine Vorgänger. Russ zieht nämlich den Schluß aus den Versuchen seiner Vorgänger mit verschiedenen Bakterien und aus seinen eigenen Versuchen mit Bact. coli, Staphylococcus pyogenes aureus, Bacillus anthracis und Bacillus diphtheriae, daß „Alkohol ohne oder fast ohne Wasserzusatz auf

trockene Bakterien weder eine entwickelungshemmende, noch eine abtötende Wirkung ausübe“. Indem Verf. dagegen seine oben beschriebene scharfe Methode anwendete, fand er, daß der Alkohol auch auf die eingetrockneten Bakterienzellen eine abtötende Wirkung ausübt. Als Beispiel seiner Versuche mag der folgende genannt werden: 40 Platindrahtstücke mit Vegetationen von Bact. coli wurden während 1 Min. mit absolutem Alkohol behandelt; alle 40 Vegetationen, ohne Ausnahme, wurden getötet. Hieraus ist also ersichtlich, wie wichtig es bei derartigen Versuchen ist, daß man dafür Sorge trägt, daß die einzelne Zelle beeinflußt wird. Auch andere Versuche mit Alkohol von geringerer Stärke wurden vom Verf. angestellt.

Von Wichtigkeit in methodischer Beziehung ist ferner die Frage, wie lange diejenige Züchtung fortgesetzt werden muß, welche dazu notwendig ist, um zu entscheiden, inwieweit die behandelten Zellen am Leben sind oder nicht. Russ schließt diese Züchtung nach 48 Stunden ab. Verf. fand, daß man nicht im allgemeinen sich auf eine so kurze Zeit beschränken darf; in der Regel ist eine viel längere Zeit notwendig. Beispielsweise ist dies aus den Versuchen des Verf. mit Bact. Pasteurianum ersichtlich; er fand nämlich, daß die Grenze hier bei ungefähr 50 Tagen liegt. Die Züchtung wurde selbstverständlich unter den günstigsten Bedingungen unternommen.

In dem 4. Abschnitte wird die Einwirkung des Aethylalkohols auf die Saccharomyces-Zellen behandelt. Die Hauptbedeutung der Untersuchungen des Verf. liegt hier wieder in der angewandten scharfen Methodik und in den dazu angeknüpften Betrachtungen. In der Literatur liegen nur zwei Mitteilungen über die Einwirkung des Aethylalkohols auf die Saccharomyces-Zellen vor, und zwar von Claude Bernard und Kurzwelly. Claude Bernard gelangte zu dem Resultat, daß während frische Bierhefe im feuchten Zustande sich in absolutem Alkohol nur 3—4 Tage lebend erhielt, bewahrte dieselbe Hefe dagegen in eingetrocknetem Zustande unter diesen Umständen das Leben $1^1/_2$ Jahre lang. Zu ähnlichen Resultaten kam auch Kurzwelly. Verf. zeigt nun, daß die frischen Hefezellen, selbst in außerordentlich dicken Schichten, in Wirklichkeit viel schneller, als von Cl. Bernard angegeben, durch Einwirkung des Alkohols sterben, und in den beschriebenen Versuchen mit den Platindrahtstücken sterben sie schon nach einer Minute. In betreff der Mitteilung Cl. Bernards rücksichtlich der Einwirkung des Alkohols auf eingetrocknete Zellen, konnte Verf. diese Mitteilung bestätigen, indem die eingetrockneten Zellen eine viel längere Einwirkung des Alkohols aushalten, als die feuchten Zellen. Cl. Bernard hat indessen nicht gesehen, daß auch bei dieser Versuchsanordnung der Alkohol nach und nach die Zellen angreift und zuletzt jede Spur von Leben auslöscht.

Es wurde lange vergeblich mit Hilfe des Mikroskops nach gallertartigen Bildungen bei Hefezellen gesucht; im Jahre 1885 (Botan. Centralbl. Bd. XXI) wies Verf. aber nach, daß die Hefezellen mit einer Schleimbildung versehen sind, welche bei einer gewissen Präparation als ein gelatinöses Netzwerk erscheint. Dieselben besitzen hierin ein Schutzmittel gegen verschiedenartige Angriffe, im vorliegenden Falle gegen die Einwirkung der Vertrocknung und des Alkohols. Verf. fand ebenfalls, daß dieser Schleim, wenigstens zum großen Teil, sich durch Auswaschen entfernen läßt, und daß dann die auf diese Weise behandelten Zellen einen bedeutend geringeren Widerstand als sonst gegen derartige nachteilige Einwirkungen leisten.

Verf. versuchte auch die Frage zu beantworten, ob man nicht mittels der Alkoholbehandlung vielleicht in den Stand gesetzt werden würde, in einer Saccharomyces-Vegetation die vegetativen Zellen zu töten, so daß nur allein die Sporen im lebenden Zustand übrig bleiben würden. Dieses hat bei verschiedenen Untersuchungen eine große Bedeutung und ist namentlich in zwei Punkten bei den Studien des Verf. über Variation und Erblichkeit, in Frage gekommen. So ist es bei den Untersuchungen über die Asporogenität von größter Wichtigkeit, zu ermitteln, ob sämtliche Zellen einer Vegetation vollkommen asporogen sind oder nicht, ob es nicht unter den Tausenden von Zellen, mit welchen man arbeitet, vielleicht eine einzelne gäbe, welche noch immer sporogen geblieben wäre; endlich bei den Untersuchungen über die Erscheinung der Ober- und Untergärung in dem Punkte, wo es sich darum handelte, eine reiche, aber vollständig reine Sporenfruktifikation, frei von jeder Einmischung vegetativer Zellen, darzustellen. Bei den Bakterien erzielt man alles dies leicht, nicht nur mittels der oben erwähnten Alkoholbehandlung, sondern auch durch Erwärmung; es ist bei diesen Organismen ein großer Unterschied zwischen dem, was die Spore, und andererseits dem, was die vegetative Zelle in diesen Beziehungen vertragen kann. Bezüglich der auf Saccharomyces-Zellen vom Verf. angewandten Erwärmung hat es sich gezeigt, daß diese Methode unsicher ist; auch hat man bisher auf keinem anderen Wege ein sicheres Resultat erreichen können.

Verf. hat jetzt seine neuen Untersuchungen in dieser Richtung mit dem Weinhefepilz Johannisberg II unternommen, und das Resultat war, daß sowohl alte als junge vegetative Zellen in feuchtem Zustande nach einem Aufenthalt von einer Minute sowohl in absolutem Alkohol, als in 50-proz. Alkohol getötet wurden; die jungen Sporen verhielten sich in der gleichen Weise wie die vegetativen Zellen, während dagegen die völlig reifen Sporen sich unter diesen Umständen weit mehr als eine Minute lebend erhielten. Verf. hatte also eine Methode erfunden, welche es ermöglicht, in einer Mischung von Sporen und vegetativen Zellen diese letzteren zu töten, ohne gleichzeitig die Sporen in erheblichem Grade zu schädigen.

Die Versuche mit getrockneten vegetativen Zellen zeigten, daß dieselben eine über 2 Minuten dauernde Einwirkung von absolutem Alkohol, aber nicht eine 1 Minute währende Einwirkung von 50-proz. Alkohol vertrugen. Die Regel schien die zu sein, daß der Tod nach 5 Minuten Aufenthalt in absolutem Alkohol eintrat. Die getrockneten Sporen erhielten sich in absolutem Alkohol über 6 Tage am Leben, waren aber in 50-proz. Alkohol nach weniger als 3 Tagen getötet. Das Resultat war, daß durch die Eintrocknung die Widerstandsfähigkeit der Zellen gegenüber der Alkoholbehandlung in allen Fällen erhöht wird; auch unter diesen Umständen ist die Widerstandsfähigkeit der Sporen größer als die der vegetativen Zellen. 50-proz. Alkohol hat eine schneller tötende Wirkung als absoluter Alkohol. Bei einer Preßhefe erwies sich die neue Methode auch als vollkommen genügend, aber bei einigen anderen Arten nicht. Es fanden sich also Ausnahmen, und man hat hier wieder eine Bestätigung der alten Regel, daß die Arten den äußeren Faktoren gegenüber verschieden reagieren.

Die hier mitgeteilten Untersuchungen zeigen also, daß der Hauptunterschied zwischen den Bakterien und den Saccharomyceten, soweit gegenwärtiges Gebiet in Betracht kommt, darin besteht, daß die vege-

tativen Zellen der Saccharomyces-Arten in getrocknetem Zustande und die Sporen sowohl in getrocknetem als auch in feuchtem Zustande eine geringere Widerstandsfähigkeit dem Alkohol gegenüber besitzen, als die bei den Bakterien gefundene. A. Klöcker (Kopenhagen).

Molz, E., Ueber Beeinflussung der Ohrwürmer und Spinnen durch das Schwefeln der Weinberge. (Ztschr. f. wissenschaftl. Insektenbiologie. Bd. IV. [1. Folge Bd. XIII]. 1908. Heft 3. p. 87—95.)

Ohrwürmer gehören zu den größten Feinden des gefürchteten Heu- und Sauerwurmes in den Weinbergen. Die neutrale Bordelaiser Brühe äußert kaum große Nachteile auf das Kleintierreich; anders verhält sich aber der Schwefel. Verf. unternahm Versuche, welche sich auf folgende Fragen erstreckten: 1) Direkt nachteilige Einwirkung auf die Tiere? 2) Wie wirken die geruchlich abschreckenden Oxydationsprodukte des Schwefels? 3) Kombination beider Faktoren. — Es ergaben sich folgende Resultate:

1) Ein Bestäuben der Ohrwürmer mit Schwefelpulver hat, besonders bei wiederholter Ausführung und bei höherer Temperatur, für die behandelten Tiere tödliche Folgen. 2) Der Tod der mit Schwefel bestäubten Ohrwürmer erfolgt durch Verstopfung ihrer Stigmen. 3) Schwefelpulver wird von den Tieren ohne Nachteil gefressen. 4) Wenn schweflige Säure irgendwo nur in Spuren nachweisbar ist, so verlassen die Ohrwürmer unbedingt solche Orte. 5) Ein Bestäuben der Spinnen (Clubiona) mit Schwefelpulver ist für diese ohne Bedeutung. — Natürlich ist das Abtöten des Oidiums viel wichtiger; aber es steht fest, daß wegen der Abnahme der Ohrwürmer in den geschwefelten Weinbergen der Heu- und Sauerwurm überhand nimmt. Diesen Würmern muß man jetzt Aufmerksamkeit schenken. Matouschek (Wien).

Peglion, V., Esperienze intorno a la distruzione delle alghe col metodo Moore-Kellerman. (Atti Accademia Georgofili. [5]. Vol. V. 1908. 9 p.)

Reisfelder sind öfters von Hydrodictyon reticulatum, Rivularia natans, Elothrix, Nostoc usw. befallen und untauglich gemacht. Immerhin kann man eine vollständige Reinigung durch Auflösen von 300—1500 g $CuSO_4$ pro Tornatura erzielen. Berieselungs- und Abfuhrkanäle sind ebenfalls oft mit Conferva bombycina, Vaucheria clavata, Oscillatoria, Spirulina major, Spirogyra crassa, porticalis und Cladophora verstopft. Mittels dreimaliger Kupfersulfatzufuhr in einer Gabe von 1:500000 bis 1:1000000 können alle diese Algen beseitigt werden. Bei Hanfrottgruben genügt eine Verkupferung von 1:5000000. E. Pantanelli (Rom).

Vill, Der Kampf gegen die Engerlinge in den Pflanzgärten. (Naturwissenschaftl. Zeitschr. f. Forst- u. Landwirtschaft. 1908. Heft 5.)

Bezüglich verschiedenartiger Vertilgungsmittel wurden die nachbeschriebenen Erfolge erzielt:

Einstreuen von Kainit in Rillen zwischen den Verschulpflanzen: ohne Erfolg.

Eindringen von Schwefelkohlenstoff in Form der Jamainschen Kapseln: ohne wesentlichen Erfolg.

Begießung mit einer Auflösung von Karbolsäure: ohne Erfolg.

Eingießen von Schmierseifenwasser: ohne Erfolg.

Einpflanzung von Zwiebeln: ohne Erfolg.

Einpflanzung von Salat: als Fangmethode brauchbar, doch nicht überall.

Einbringen von Tabakstaub: scheint nur in sehr starken Gaben die Tiere zu vertreiben.

Umspaten einzelner, stark besetzter Teile der Gärten: mit Erfolg.

Am meisten wird sich im Vergleich zu all diesen Mitteln die Verhinderung der Eiablage seitens der Käfer in den Pflanzgärten bewähren. Diese ist durch Ueberbrausen mit Karbolineum bei den Versuchen des Verf. nicht erreicht worden, ebensowenig durch Verwendung von Schmierseifenwasser. Besser bewährte sich schon Einstreuen von Viehsalz, per Hektar 15 Doppelzentner. Vor allem empfehlenswert ist aber Bestreuen der Pflanzgärten mit Aetzkalkstaub, der aber wirklicher gebrannter Kalk, noch nicht gelöscht, sein muß. Ausstreuung während der Flugzeit zwei bis dreimal, per Hektar etwa 20 Doppelzentner Aetzkalkstaub. Umgibt man die Pflanzung noch mit mindestens 0,75 m tiefen Gräben, um das Einwandern zu hindern, so ist der Erfolg durchschlagend. Die Pflanzen leiden durchaus nicht. Indes ist bei anhaltend nasser Witterung das Mittel nicht brauchbar, da die Feuchtigkeit die Wirkung beseitigt.

Ehrenberg (Breslau).

Institute etc.

Haselhoff, E., Mitteilungen der landwirtschaftlichen Versuchsstation in Marburg. (Int. phytopath. Dienst. Jahrg. I. 1908. Stück 3. p. 73—91.)

1) Versuche über die Einwirkung schwefeliger Säure auf Boden. Als Ergänzung früherer Versuche zur Klärung der Frage der Rauchbeschädigungen durch Schwefelsäure und schwefelige Säure hat Verf. folgende weitere Versuche angestellt.

In Vegetationsgefäße, welche zum Teil frisch eingelegte Bohnen und Gerstenkörner, zum Teil im Wachstum begriffene Pflanzen enthielten, wurden SO_3-Dämpfe eingeleitet, um die Veränderung der Beschaffenheit der Ackerkrume, die Einwirkung der Säure auf die Keimung und das Wachstum der Versuchsobjekte zu beobachten.

Auf diese Weise wurde festgestellt, daß durch das Gas, solange freie Säure im Boden vorhanden ist, eine Zerstörung der Keimkraft, sowie erhebliche Schädigung der bereits in der Weiterentwickelung begriffenen Pflanzen (Verfärbung, Verminderung des Ernteertrages bezw. Absterben) stattfindet. Wurde der Gehalt des Versuchsbodens an Basen durch Kalkzufuhr erhöht, so traten keine nachteiligen Folgen für Keimung und Wachstum ein.

2) Versuche über die Einwirkung schwefeliger Säure auf kupferhaltigen Boden. Zu diesen Versuchen gab eine Klagesache wegen Beschädigung der Feldfrüchte durch die Abgänge einer Kupferhütte Anlaß. Die chemische Untersuchung kranker und gesunder Böden aus der Umgebung der Hütte ergab für den gesunden Boden einen relativ hohen Kalkgehalt und geringe Mengen von wasserlöslichen Kupferverbindungen, für den kranken Boden Kalkarmut und hohen Gehalt an Kupfer, insbesondere an wasserlöslichen Kupferverbindungen. Durch entsprechende Vegetationsversuche wurde bei Pflanzen in den Böden, die am meisten lösliche Kupfersalze enthielten, starkes Zurückbleiben im Wachstum, Verkümmerung des Wurzelsystems und durch die Analyse erhebliche Verminderung des Trockensubstanzgewichtes der Pflanzen festgestellt.

Durch weitere Versuche sollte geprüft werden, ob die schwefelig sauren Rauchgase lösend auf das im Boden vorhandene Kupfer wirken und ob durch die gelösten Salze schädliche Wirkungen auf die Vegetation hervorgerufen werden. Zu diesem Zwecke wurde schwefelige Säure im Boden, der mit Kupferkarbonat bezw. Kupfersulfur versetzt war, geleitet. Die Resultate der Bodenanalyse ließen eine starke Einwirkung der schwefeligen Säure auf die Löslichkeit der Kupfersalze im Boden, die der Analyse der Versuchspflanzen die schädigende Wirkung der schwefeligen Säure und des Kupferkarbonats erkennen und zeigen, daß das schwerlösliche Kupfersalz nicht nachteilig gewirkt hat.

Schaffnit (Bromberg).

Hiltner, L., Bericht über die Tätigkeit der Königl. agrikulturbotanischen Anstalt in München im Jahre 1907. (Fünfter Bericht.) München (Riegersche Univ. Buchhandlg.) 1908. Pr. 1,50 M.

Aus dem 246 Seiten starken Berichte möge folgendes hervorgehoben werden:

B. Pflanzenschutz (Mitreferent G. Korff).

1) Getreide. Winterroggen ließ im Auflaufen nicht selten zu wünschen übrig. Saaten, die bei der Keimprüfung tadellose Resultate lieferten, versagten im Freien oft vollkommen. Die jungen Keimlinge erwiesen sich befallen von Fusarium. Von der Saatzuchtstelle der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft waren 3 Sorten vergleichend angebaut in 150 Fällen über ganz Deutschland. Davon zeigten sich mangelhaftes Auflaufen bei Petkuser in 4 Proz., bei Paleschkener in 1,5 Proz. und bei Heines Zeeländer in 61 Proz. Der Pilz erwies sich mit Fusarium nivale, dem Schneeschimmel, identisch, was auch die Tatsache erhellt, daß wiederum der Zeeländer in 63 Proz. schlecht durch den Winter kam. Sicher ist anzunehmen, daß der Pilz durch das Saatgut erst in den Boden kam, was vielfach bezweifelt worden ist, durch Sublimatbeize war es möglich, den Samen von ihm zu befreien. Es gibt also eine Art Auswinterung, die durch Beizung des Saatgutes bekämpft werden kann.

Rost und Brand trat am Wintergetreide nur lokal auf. Das Sommergetreide litt im allgemeinen schwer durch Hederich und Ackersenf, Hafer litt nicht selten durch Milbenbefall, während der Haferflugbrand wesentlichen Rückgang zeigte. Sehr interessant ist die Tatsache, daß sich im Herbst 1907 beim Roggen, zum Teil auch beim Weizen eine sehr starke Braunrostepidemie geltend machte, die sich über das ganze rechtsrheinische Bayern erstreckte und mit dem warmen Herbste in Verbindung zu bringen ist. Aehnlich war es im Jahre 1904, wo eine vorzeitige Temperaturerhöhung den starken Gelbrostbefall des Weizens zur Folge hatte. Interessant ist weiter, daß im Frühjahr 1908 nicht ein Fall von Braunrost nachgewiesen wurde.

2) Hackfrüchte. Bei den Kartoffeln trat natürlich in den Vordergrund des Interesses, inwieweit die Blattrollkrankheit in Bayern aufgetreten ist. Im rechtsrheinischen Bayern ist sie nur in wenigen Fällen konstatiert worden, ohne erheblichen Schaden zu verursachen, während sie sich im nordöstlichen Teile der Pfalz in ziemlich bedenklichem Umfange gezeigt hat. In einigen Fällen wurde durch Schwarzbeinigkeit beträchtlicher Schaden angerichtet, während Phytophthora infestans nicht stark auftrat.

Bemerkenswert ist ein Fall frühzeitiger Fäulnis der Knollen durch

Rhyzoglyphus echinopus und Stockälchen, das starke und regelmäßige Auftreten von Schorf in manchen Gegenden. Von den Krankheiten der Rüben sind zu erwähnen: Wurzelbrand, Herz- und Trockenfäule, Rhizoctonia violacea, in einzelnen Fällen ausgedehnt zeigte sich Schwarzbeinigkeit und Anthomyia conformis in der Pfalz.

3) Wiesen- und Futterpflanzen. Die Herbstzeitlose trat auf Wiesen weniger stark auf, erwähnenswert ist ihre erfolgreiche Bekämpfung durch Bestreuen mit Dungsalz (in möglichst feiner Form) aus den Salinen; nicht selten trat Seide auf Wiesen stark auf, in Niederbayern waren teilweise starke Engerlingschäden zu verzeichnen. Auf Klee war die Kleeseide ziemlich häufig anzutreffen, in der Pfalz auch die echte amerikanische Grobseide, beide durch das Saatgut auf die Felder gebracht. Ganz erheblichen Schaden richtet Orobanche minor besonders im Chiemseegebiet an. Vielfach waren Auswinterungsschäden durch Stockälchen und Kleekrebs verursacht, an Samenrotkleepflanzen trat einmal der Kleestecher, Apion trifolii stark auf, ausgedehnte Schädigungen wurden durch Feldmäuse, seltener durch Schnecken, einmal durch die Larven des Junikäfers hervorgerufen. An Luzerne wurde einmal Erkrankung durch Urophlyctis Alfalfae erwähnt, während Rhizoctonia violacea mancherorts sehr schädlich auftrat.

4) Gemüse- und Handelsgewächse. Die Ernteerträge waren im Berichtsjahre sehr gute zu nennen, da keine Krankheit in vernichtendem Umfange aufgetreten ist. An den kohlartigen Gewächsen zeigten sich zuweilen in mehr oder minderer Menge Erdflöhe, Anthomyia brassicae, Ceutorrhynchus sulcicollis, Larven von Lacon murinus, größeren Schaden verursachte zuweilen Botys forficalis, Bibio hortulanus, Mamestra brassicae, die in manchen Gegenden die Kultur von Krautarten geradezu in Frage stellt. Gegen die teilweise stark auftretende Hernie wurde Behandlung des Bodens mit Karbolineum, Kalk etc. vorgenommen, die aber durchschlagende Resultate nicht ergab. Pythium richtete an Kohlsetzlingen nicht selten großen Schaden an, ein interessanter Fall von Fußkrankheit der Bohnen durch ein Fusarium verdient Erwähnung. Für die Schwärze der Sellerieknollen wurde als Ursache eine Sclerotinia angegeben. Interessant ist eine Mitteilung, nach der in Gurkenfeldern, große, sich zentrifugal ausdehnende Erkrankungsstellen auftraten, die durch ein Fusarium (wahrscheinlich F. niveum) verursacht wurden. Ebenso richteten Tetranychus, Blattläuse und Milben nicht selten Schaden an. Gegen die Schwärze des Meerrettichs wurden Versuche angestellt, deren Ergebnisse aber nicht günstig ausgefallen sind.

5) Hopfen. Größeren Schaden verursachte in einigen Gegenden Tetranychus telarius, gegen die sich Dufoursche Lösung gut bewährte. Die Möglichkeit der Bekämpfung der Hopfenmüdigkeit durch Schwefelkohlenstoff wurde durch einen Versuch wahrscheinlich gemacht.

6) Weinstock. Im großen und ganzen hatte man wenig unter Krankheiten zu leiden. Peronospora viticola und Oidium Tuckeri traten erträglich auf. Gegen Heu- und Sauerwurm wurden verschiedene Spritzmittel versucht, ohne daß ein durchgreifender Erfolg erzielt wurde. In der Pfalz traten zum Teil Tortrix pilleriana, Rhynchites betuleti ziemlich stark auf, lokal an jungen Trieben die Erdraupen (Agrotis), Tetranychus und Phytoptus.

7) Obstbäume. Frost, Hagel und tierische Schädlinge haben insbesondere die Ernte stark herabgedrückt. An Pilzerkrankungen traten seltener auf Monilia, erheblich schadete Fusicladium dentriticum und pirinum, stellenweise häufig Gymnosporangium Sabinae, in einem Falle die seltene Roesleria hypogaea. Daneben zeigten sich, wie überall, die bekannten Krankheiten Rußtau, Schrotschuß etc. Erheblich traten auf Schildläuse, Blattläuse und Blutlaus. Großen Schaden verursachten verschiedene Schmettterlingsraupen, insbesondere Hyponomeuta-Arten, denen sich Malacosoma, Euproctis, Cheimatobia, Aporia zugesellten. Neben Carpocapsa, Lionetia trat außergewöhnlich stark die Apfelblattmotte, Simaethis pariana auf, nicht selten auch Blastodacna hellerella. Gegen die Larven von Lyda nemoralis und L. Piri wirkte gut eine Brühe von $2^1/_2$ kg reiner Karbolsäure mit etwas Seife und Quassiaholz in 500 l Wasser. Blütenstecher, Maikäfer, Junikäfer und Zweigabstecher traten mancherorts massenweise auf, zu erwähnen sind die schweren Schädigungen, die durch Wühlmäuse verursacht wurden.

8) Beerenobst. In jüngster Zeit (1908) ist der amerikanische Stachelbeermehltau auch für Bayern festgestellt wurden (bei Miltenberg a. M.). Die Stachelbeeren litten schwer durch die Stachelbeerblattwespe, an den Erdbeeren zeigte sich mancherorts Tarsonemus Fragariae als großer Schädling.

9) Gärtnerische Zier- und forstliche Pflanzen. Ein verheerendes Auftreten von Rhizoglyphus echinopus an Zwiebeln von Lilium candidum ist besonders interessant. Bestäuben mit Tabakstaub und Insektenpulver ergaben durchschlagenden Erfolg. Nicht selten verursachte Coniothyrium Wernsdorffiae an Rosen große Verluste. Lokal zeigte sich Tetranychus ununguis an Fichten, die Fliedermotte, Cecidomyia rosariae an Weiden, Lampra rutilans (Buprestide) an Linden, Maikäfer an Eichen und Pilzerkrankungen, Lophodermium etc. an Nadelhölzern.

10) Bekämpfung der Feldmäuse und anderer Nagetiere. Das Berichtsjahr zeigte sich als starkes Feldmäusejahr. Interessant ist die auch schon früher festgelegte Tatsache, daß die Mäuse von Westen nach Osten wandern. Bei der Bekämpfung haben sich Auslegungen von Barytbrot und -pillen recht gut bewährt, ebenso war auch das Mäusebacillenverfahren bei richtiger Anwendung erfolgreich. Insgesamt wurden für 105000 Tagewerk Bekämpfungsmaterial ausgegeben. Gegen Wühl- oder Mollmäuse hat sich ein bariumhaltiges „Wühlmausgift" gut gezeigt. Der Hamster wurde erfolgreich mit Schwefelkohlenstoff bekämpft.

C. Unkrautbekämpfung (Mitreferent Friedrich Lang). Das Jahr 1907 war ein „Drilljahr", gekennzeichnet durch starkes Auftreten von Hederich und Ackersenf, deren Vernichtung durch Bespritzen mit Eisenvitriol meist gut gelang. Interessant ist, daß die Unkräuter periodisch aufzutreten scheinen, was auch die Meinung der Landwirte zum Ausdruck bringt, daß jedes dritte Jahr ein sogenanntes Drilljahr sei. Wahrscheinlicher erscheint die Annahme, daß durch die kalte Frühjahrszeit und teilweise Auswinterung des Getreides der Hederich einen Vorsprung bekam, den das Getreide nicht einzuholen imstande war. Gegen Ackermohn und Klappertopf scheinen Bespritzungen nicht zu wirken, besser noch gegen Hohlzahn.

Auf den in D und E niederlegten Bericht über die ausgeführten Feldversuche, die sich mit Impf- und Gründüngungsfragen, mit Düngungs-

fragen im allgemeinen, mit Fruchtfolge und Brache und anderen landwirtschaftlichen Fragen beschäftigen, soll hier nur verwiesen werden, da sie nur zum Teil in den Rahmen des Blattes passen.

A. Eichinger (Halle a. S.).

Inhalt.

Originalmitteilungen.

Originalreferate über bakteriologische und gärungsphysiologische etc. Institute, Laboratorien etc.

Referate.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Institute etc.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena

Abgeschlossen am 25. November 1908.

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XXII. No. 7|10.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Bakterizidie der Milch und über die während der bakteriziden Phase auftretenden Anpassungsformen des B. coli commune.

[Aus dem Institut für Molkereiwesen und landw. Bakteriologie der k. k. Hochschule für Bodenkultur in Wien.]

Von **Viktor Brudny**, Assistent am Institut.

1. Die Kuhmilch als Nährmedium für die Milchbakterien.

Die Diagnose der Kolonieen, welche man durch das gewöhnliche Plattenverfahren aus frischer oder nur wenige Stunden alter Rohmilch erhält, bietet aus mehrfachen Gründen oft Schwierigkeiten. Abgesehen davon, daß die Beschreibungen mancher aus Milch isolierten Bakterien oft sehr unvollständig sind, stellt sich einer genauen Identifizierung die Variabilität mancher Formen unter dem Wechsel verschiedener Lebensbedingungen entgegen. Ebenso wie bei Bakterienkulturen durch die längere Fortzüchtung im Laboratorium gewisse Eigenschaften in einseitiger Weise begünstigt werden, so führt auch in der Natur eine länger dauernde Einwirkung einförmiger Lebensbedingungen oft zu einem auffälligen Hervortreten gewisser Eigenschaften, während sonst für charakteristisch gehaltene zurücktreten. Um für den ersten Fall ein Beispiel zu bieten, sei an den von Löhnis (p. 98) zitierten Fall erinnert. „Man berücksichtige nur z. B., daß Adametz an einer aus Duclaux' Laboratorium stammenden Kultur des Actinobacter polymorphus Anfang der 90er Jahre noch die charakteristischen Eigenschaften fand, dagegen Migula eine später von Král bezogene Kultur als beweglich, und Lehmann und Neumann Material desselben Ursprungs gar als völlig übereinstimmend mit Sarcina tetragena erkannten."

Die weiteren Untersuchungen werden zeigen, daß verschiedene Bakterien keineswegs immer mit Beibehaltung aller für sie charakteristischen Eigenschaften in Milch wachsen und sich aus Milch isolieren lassen.

Als Kriterium dafür, ob Bakterien in einem Medium die ihnen zusagenden Lebensbedingungen finden, mag der normale Verlauf aller ihrer Lebensäußerungen angesehen werden, wozu nicht im mindesten die normale Vermehrungstätigkeit, also die Vergrößerung der Keimzahl gehört. Nun ist aber schon lange bekannt, daß in ganz frisch gewonnener, kühl aufbewahrter Rohmilch keine Vermehrung, sondern eine Abnahme der Keimzahl zu konstatieren ist. Erst nach Ablauf einer gewissen bakteriziden Phase beginnt die Keimzahl wieder anzusteigen.

Die Dauer der Keimverminderung beträgt je nach der Temperatur oft 12 und mehr Stunden. Bei Untersuchungen über die Haltbarkeit der unter besonderen Reinlichkeitsmaßregeln gewonnenen Milchproben gelangten Rullmann und Trommsdorf (p. 340) zu dem Resultat, „daß der Keimgehalt der Milch (die nach der Melkung sofort in Eis-

packung kam, in welcher sie bis zur erfolgten Aussaat zur Keimzählung, etwa 1 Stunde lang, im Laboratorium verblieb und dann bei der zwischen 15 und 25° C schwankenden Zimmertemperatur stehen gelassen wurde) bei Zimmertemperatur in der ersten Zeit nach dem Melken nicht zunimmt. Im Gegenteil zeigte sich bei einigen Proben schon innerhalb 5—7 Stunden ein deutliches Absinken der Keimzahl, welches in der folgenden Zeit noch mehr hervortrat, so daß in einer sehr großen Zahl der Fälle die Keimzahl nach 1, 2, ja selbst nach 3 und in einem Falle noch nach 5 Tagen niedriger gefunden wurde als direkt nach dem Melken. Fand keine Abnahme statt, dann blieb der Keimgehalt während 1 bis 3 Tagen ungefähr dem anfangs festgestellten gleich".

Durch verschiedene Autoren wurde festgestellt, daß nicht nur die Vollmilch, sondern auch das Laktoserum bakterizide Eigenschaften besitzt.

Nach allen bisher vorliegenden Untersuchungen scheint die Meinung zu bestehen, daß während des oben bezeichneten Zeitraumes von den in der Milch vorhandenen Bakterien ein Teil abstirbt und somit nur derjenige Teil auf den Platten unverändert zum Vorschein kommt, der von der Bakterizidie der Milch verschont worden ist. Zum Teil hat man auch hervorgehoben, daß nach Uebertragung von Kartoffelbacillensporen und anderen Sporen in ein anderes Nährmedium erst eine gewisse Zeit des Ruhezustandes bis zur Auskeimung verstreicht.

Es mag vorläufig auf die Ursache der Bakterizidie nicht eingegangen werden, aber so viel ist von vornherein klar, daß derartig abnormale Lebensbedingungen keine normalen Formen erzeugen können, daß also auch diejenigen Bakterien, welche im Kampfe gegen die Bakterizidie nicht völlig zugrunde gegangen sind, nach der Uebertragung auf Gelatine- oder Agarnährböden oft noch Spuren dieses Kampfes an sich tragen werden, die in ihren morphologischen und physiologischen Eigenschaften auch zum Ausdruck kommen müssen.

Die bisher gemachten Untersuchungen enthalten über die morphologischen Veränderungen der Bakterien während der bakteriziden Phase der Milch keine Bemerkungen. Auch die ausführlichste der letzten Untersuchungen über die Milchbakterizidie (Koning) beschäftigt sich nur mit der Veränderung der Keimzahl. Es mag hierbei hervorgehoben werden, daß der Verfasser neben dem Absterben anderer Bakterien auch das der Coli-Bakterien in gewöhnlicher und Kolostrummilch konstatiert hat. Wie später nachgewiesen werden wird, konnte ich ebenfalls an mehreren Coli-Stämmen in roher Milch ein Zurückgehen der Keimzahl in den ersten Stunden nach der Gewinnung beobachten. Es besteht also über die bakterizide Eigenschaft der Milch gegenüber der Coli-Bakterie kein Zweifel mehr. Bezüglich pathogener Bakterien ist die oft schwere Uebertragbarkeit auf die gewöhnlichen Nährböden, der Uebergang vom parasitischen zum saprophytischen Dasein, ja zur Genüge bekannt. Daß durch den Wechsel des Mediums die morphologischen Eigenschaften mancher Bakterien nicht unverändert gelassen werden, hat Grassberger durch seine Studien an Buttersäurebacillen nachgewiesen, und es mag hier als charakteristisch folgende Stelle hervorgehoben werden (p. 160): „Ich will vorausschicken, daß wir im rauschbrandkranken Tier unsere Stäbchen in verschieden virulentem Zustand antreffen. Gerade die virulentesten Rassen sind verhältnismäßig schwer züchtbar. Wir haben große Mühe, sie an unsere üblichen Nährböden anzupassen, und andererseits zeigt uns eine Betrachtung der primär aus dem Original-

saft erhaltenen Kolonieen, daß bei diesem ersten Versuche die Stäbchen durch sehr charakteristische Gestaltsveränderungen die schwierige Anpassung verraten."

Ferner (p. 163): „Ueberträgt man besonders schwer anzupassende primäre Kolonieen des Rauschbrandbacillus unter Verwendung geeigneter Hilfssubstanzen (steriler Rindermuskel) in Kolben mit Zuckerbouillon und Kreide, so sehen wir zwar wieder stürmische Entwickelung mit energischer Gärung, die Spaltung der Zellen geht ungemein rasch vor sich, eine Anzahl von Nachkommen lenkt in Versporung, die Granulose füllt aber bald das ganze Stäbchen aus und dieses geht vorzeitig zugrunde."

Bezüglich des B. coli commune und anderer Milchbakterien liegen nun die Verhältnisse nicht so ungünstig, doch ist es auch hier notwendig, sich eine Vorstellung von ihrem Kreislauf in der Natur zu machen, um beurteilen zu können, welche Rolle die Milch in dem Wechsel der Medien spielt. Am anschaulichsten schildert Koning (p. 123) diese Verhältnisse: „Durch diese Versuche ist der Beweis erbracht, daß viele echte Fäkalbakterien, jedoch auch viele echte Milchbakterien, welche niemals in der frischen Milch fehlen, in der Natur einen Kreislauf beschreiben. Mit dem Kot verlassen sie die Ställe, kommen auf das Feld, haben einen wirksamen Anteil an der Zerlegung der organischen Stoffe, bringen die Pflanze zur Entwickelung, zur Blüte und Samenbildung (?), verbleiben in vegetativem Zustande auf der Pflanze, kommen mit dem Futter in den Darmkanal des Rindes, nehmen teil am Kampf beim Verdauungsprozeß, verlassen mit den Fäkalien den Körper, infizieren zum Teil die Stallluft und die frisch gemolkene Milch und kehren in die Natur zurück, um wieder den vorhin beschriebenen Weg in dem endlosen Leben zu verfolgen."

Dazu kommen noch die vielfachen schwächenden Momente während des Aufenthaltes der Bakterien in den Milchsammelgefäßen etc.

Dieser Wechsel der Lebensbedingungen dürfte auch die Ursache der bei B. coli so ausgeprägten Variabilität sein. Pfaundler (p. 406) gibt dieser Ansicht in folgender Weise Ausdruck: „Als weiteres Merkmal für die zur Coli-Gruppe zu zählenden Bakterienarten könnte man geradezu auch die so vielfach zum Ausdruck kommende Variationsfähigkeit in morphologischer und biologischer Beziehung betrachten. Diese Eigentümlichkeit steht möglicherweise mit der Stellung, die das Bacterium coli als Saprophyt des tierischen Körpers spielt, in engerem Zusammenhange. Die saprophytische Rolle verlangt eine weitgehende Anpassungsfähigkeit an wechselnde Lebensbedingungen, die ihrerseits eine Reaktion in den Lebensäußerungen und Erscheinungsformen des Mikroben zur Folge haben müssen."

2. Die Keimverminderung in frischer Rohmilch und der Einfluß der letzteren auf die Form der Bakterien.

Worin äußert sich nun im allgemeinen der Wechsel des Nährmediums? Basenau hat darauf hingewiesen, daß bei Ueberimpfung von Bakterienmaterial von einer gut gedeihenden Zucht auf neue sterile Nährböden die Entwickelung nicht sofort weitergeht, sondern je nach der Temperatur einige Stunden aussetzt, um dann von neuem in Gang zu kommen. Basenau hat diese Erscheinung als Hemmung der Entwickelung gedeutet, welche dadurch hervorgerufen wird, daß die übergeimpften Keime

plötzlich in neue Verhältnisse versetzt werden, an die sie sich erst gewöhnen müssen. Bezüglich der gegensätzlichen Existenzbedingungen in noch ungünstigerer Lage befinden sich nun nach Burri die meisten der in frisch gemolkener Milch vorhandenen Bakterien. Zum Teil aus der Luft, wo sie sich in halb ausgetrocknetem Zustande schwebend hielten, zum Teil aus feuchtem oder ausgetrocknetem Kuhkot, zum Teil aus Fugen und Ritzen des Melkkübels, wo sie vielleicht durch die Behandlung mit heißem Wasser geschwächt worden sind und aus all den anderen früher angeführten Quellen gelangen sie in die Milch und bedürfen hier offenbar einer Summe verschiedener Reize, um in den Zustand der lebhaften vegetativen Tätigkeit überzugehen. Nur jene Arten, welche als ständige Bewohner des Euterinnern gelten können und mit den Milchstrahlen im Melkeimer aufgefangen werden, sind vielleicht auf die Entwickelung in der Milch besser vorbereitet und können gewissermaßen die schon im Euter begonnene vegetative Tätigkeit außerhalb desselben einfach fortsetzen.

Dies dient wahrscheinlich zur Erklärung eines Versuches mit zwei Coli-Stämmen, die ich in aseptisch gewonnene Milch impfte und die von den zum Teil verflüssigenden Euterkokken überwuchert wurden, weil die letzteren offenbar besser an die Milch angepaßt sind.

Ich habe nun durch das Studium der morphologischen Eigenschaften der aus frischer Milch gewonnenen Coli- und Aërogenes-Kolonieen deutliche Anzeichen für die Hemmung der Entwickelung beobachten können.

Die erste auffallende Beobachtung war die, daß in den oben genannten Kolonieen aus frischer Milch auf Gelatineplatten neben den normalen beweglichen oder unbeweglichen Kurzstäbchen stets bedeutend längere und breitere unbewegliche Formen zu finden waren. Diese erreichten oft eine Länge von 8—10 μ, eine Breite von 0,8—1,2 μ, schienen sehr zart gebaut zu sein und nur an den abgerundeten Enden aus etwas dichterem Plasma zu bestehen.

Bezüglich alter Kulturen und nicht zusagender Nährböden war ja das Vorkommen derartiger Formen schon lange bekannt und als Involutionserscheinung gedeutet worden, da ja in alten Kulturen ein Absterben der Keime stattfindet. Hier handelt es sich aber um junge Kulturen auf frischen Nährböden, und die Erklärung dieser Formen mußte daher weniger auf die Zusammensetzung des Nährbodens selbst, als auf die Herkunft der darauf geimpften Bakterien Rücksicht nehmen.

Da nun während der bakteriziden Phase der Milch ebenfalls ein Absterben der Bakterien nachgewiesen ist, so wird es gewiß oft vorkommen, daß solche noch nicht völlig zugrunde gegangene, aber noch im Absterben begriffene Stäbchen bei der Anlegung der Gelatineplatten mit übertragen werden. Es ist sehr unwahrscheinlich, daß die aus ihnen hervorgehende Stäbchengeneration dann sofort in die normale Form übergehen wird, sondern man muß annehmen, daß es neben denjenigen Stäbchen, welche sich vollkommen dem neuen Nährboden angepaßt haben, auch zahlreiche verunglückte und kranke geben muß.

Daß dabei auch die Zusammensetzung des frischen Nährbodens nicht ohne Bedeutung ist, wird sich bei den nun folgenden Versuchen deutlich zeigen.

Die zum Versuch verwendete Milch wurde unter den bei der aseptischen Milchgewinnung üblichen Vorsichtsmaßregeln ermolken. Zunächst

wurde das Euter mit lauer 1-proz. Formulsinlösung, dann mit lauem sterilen Wasser gereinigt und schließlich mit steriler Watte abgetrocknet. Die ersten Strahlen wurden auf den Boden gemolken und hierauf ungefähr 100 ccm Milch unter möglichster Vermeidung einer Luftinfektion möglichst rasch in je zwei sterile enghalsige Erlenmeyer-Kölbchen gemolken. Die Kölbchen wurden dann mit steriler Watte verschlossen und jedes nach einer halben Stunde mit einer Bouillonkultur eines aus frischem Kuhkot isolierten Coli-Stammes geimpft und dann in einem Wasserbade von 16° C aufbewahrt. Die zum Versuche verwendeten Coli-Stämme zeigten typische Form, Beweglichkeit und Wachstum auf den üblichen Nährböden, Milchgerinnung, positive Indolreaktion, und waren gramnegativ. Die erhaltenen Keimzahlen waren:

Keimzahl	Coli-Stamm I	Coli-Stamm II
sofort nach der Impfung	3900	4462
nach 4 Stunden	2850	2480
„ 12 „	2610	2220

Bei der mikroskopischen Untersuchung der coliartigen Kolonieen (neben denen fast keine anderen Typen aufgetreten waren) ergab sich folgendes:

Sofort nach der Impfung: Die Kolonieen auf Milchzucker- und Beijerinckscher Milchzuckerkreidegelatine wuchsen typisch. Die Stäbchen waren (im lebenden Zustande gemessen), 1,5—2 μ lang, 0,5 μ breit und träg beweglich. Längere Stäbchen waren sehr selten.

Auf den nach 4 und 12 Stunden angelegten Milchzuckerkreideplatten trat nur eine mäßige Säureproduktion ein, bei den oberflächlichen Kolonieen war sie sehr schwach oder fehlend. Die Stäbchen aus den Kolonieen waren zum Teil beweglich und glichen der Ausgangsform, zum Teil unbeweglich, bedeutend länger und dicker, oft fast eiförmig.

Eine Wiederholung des Versuches mit zwei anderen vorher ebenfalls auf ihre typischen Eigenschaften geprüften Coli-Stämmen unter denselben Versuchsbedingungen (nur die Temperatur war 13° C), traten die normalen Formen gegenüber den abnormalen fast völlig zurück.

Keimzahl	Coli-Stamm III	Coli-Stamm IV
sofort nach der Impfung	26 940	16 400
nach 4 Stunden	19 430	12 300
„ 8 „	17 410	12 050
„ 12 „	17 650	10 460

Die Säurebildung auf den Milchzuckerkreideplatten begann am 4. Tage. Bei einigen Kolonieen trat auch nach 8 Tagen noch keine Säurebildung ein.

Die mikroskopische Untersuchung der coliartigen Kolonieen, die aber oft weniger dem hyalinen als dem opaken Typus glichen, zeigte, daß typische, allerdings nur träg bewegliche Stäbchen auf den zuerst angelegten Platten sehr selten, auf den späteren gar nicht mehr zu finden waren. Dagegen waren die Stäbchen 4 μ lang, 1—1,5 μ breit, unbeweglich und zeigten an den Enden scheinbar dichteres, stark lichtbrechendes Plasma. Manche, besonders die kürzeren Formen, waren elliptisch oder eiförmig, die längeren dagegen oft in der Mitte sattelförmig eingeschnürt, kurz, es waren die schon beim ersten Versuch beschriebenen abnormalen Formen. Ausnahmsweise traten auch noch größere Formen auf. Es schien, als ob sich in den langen Fäden das Plasma wieder zu

Stäbchen segmentieren würde. Auch völlig abgestorbene Individuen fanden sich häufig unter den längeren Formen, zarte Hautfetzen, an denen noch hie und da ein kugeliger Plasmarest hing. Mit stark verdünntem Karbolfuchsin färbten sich die kürzeren Stäbchen kräftiger, die längeren nur schwach. Ein Teil war auch ganz blaß, es waren offenbar abgestorbene, sehr plasmaarme Individuen.

Die Abimpfung der langen Formen auf 2-proz. Milchzuckeragar zeigte, daß dieselben nach 2 Tagen scheinbar völlig verschwunden sind und daß nur kleine (1—1,5 μ lange, 0,8 μ breite), allerdings noch unbewegliche Stäbchen zu sehen sind.

Sterile Milch, welche mit Bouillonkulturen dieser Coli-Stämme geimpft wurde, scheint die Entstehung abnormaler Formen auf den Gelatineplatten weniger zu begünstigen, doch fehlt es unter den Stäbchen auch nicht an einzelnen aufgetriebenen oder völlig zugrunde gegangenen Formen.

Es muß jedoch besonders hervorgehoben werden, daß derartige Formen nur auf Platten aus ganz frisch gewonnener oder nur wenige Stunden alter Rohmilch regelmäßig zu finden sind. Platten aus älterer Milch zeigen stets die normalen Formen, allerdings fast immer unbeweglich und schwach oder nicht säurebildend. Es soll damit nicht gesagt werden, daß man in Platten aus ganz frischer Rohmilch unbedingt bei jeder coliartigen Kolonie diese abnormalen Formen finden wird — das ist schon wegen der verschiedenen Variabilität und Anpassungsfähigkeit der einzelnen Coli-Arten nicht zu erwarten.

Wohl aber ist einzusehen, daß Bakterien, die in der Milch geschwächt wurden, einen schroffen Nährbodenwechsel viel schwerer ertragen werden, als Bakterien anderen Ursprungs. Dabei ist noch zu berücksichtigen, daß (nach Grassberger) Gärungserreger, welche große Mengen gut charakterisierter Stoffe ausscheiden, überaus empfindlich sind und auf jeden Reiz mit sozusagen übertriebenem Ausschlag reagieren.

Derartige Formen sind, wie schon früher erwähnt, in der Coli-Literatur nicht unbekannt. Pfaundler erwähnt (p. 338), daß man im Ausstrich aus Kolonieen auf älteren, kühl gehaltenen Gelatineplatten z. B., auch in alten Kartoffel- und Sodabouillonkulturen, Stäbchen findet, die an einem oder an beiden Enden helle, stark lichtbrechende, kugelige Einschlüsse tragen. Diese eingeschlossenen Körperchen sind minder färbbar. Der gut färbbare Rest des Bakterienleibes erscheint dann in der Mitte zusammengedrängt, bei kleineren, kürzeren Formen etwas über die Kontur vorgebuchtet, bei längeren dagegen sattelartig eingesunken, so daß Aehnlichkeit mit einer Achterfigur entsteht. Diese Polkörperchen oder Pseudosporen werden fast einstimmig als Involutions- oder Degenerationsformen (Vakuolen?) gedeutet.

Nach Adam und anderen Forschern nahm der Colonbacillus nach längerem Verweilen in Körperflüssigkeiten (Ascites etc.) die Diplokokkenform an; auch wenn Galle auf Colonbacillen eingewirkt hatte, zeigten die abgeimpften Kulturen Diplokokkenform, welche die Verfasser als eine abgeschwächte Form des Colonbacillus ansehen.

Bemerkenswert sind auch die Beobachtungen von A. Wolff (p. 66). Danach waren die betreffenden aus frischer Milch isolierten Coli-Stämme in der Größe auf den verschiedenen Nährböden bedeutend schwankend, desgleichen auch in der Eigenbewegung nicht konstant.

In gewöhnlicher Gelatine nach 24 Stunden $^3/_4$ μ zu 2—3 μ große, hin und wieder schnell purzelnd-kreiselnd sich fortbewegende Stäbchen, meist einzeln, jedoch auch zu zweien, selten in Fäden. Am 5. Tage war nur noch ein Schwanken und Zittern, sehr selten deutliche Eigenbewegung zu bemerken. Auf Molkengelatine waren die Zellen zweimal so groß bei gleicher Kolonieengröße. Von Agarstrich (30° C) entnommenes Material zeigte nur 2—3 μ zu 0,6 μ große Individuen mit scheinbar nur Brownscher Bewegung. Auf Kartoffel 5 zu 1 μ groß, öfters unseptierte Fäden, jedoch stets unbeweglich. In Bouillon und Milch waren die Organismen klein und unbeweglich. Nach 48 Stunden waren auf fast allen Nährböden an den Enden der Stäbchen punktförmige Verdichtungen wahrnehmbar.

Es war somit ohne Zweifel, daß dem aus frischer Rohmilch isolierten B. coli nicht ohne weiteres die Anpassung an die gewöhnlichen Nährböden gelingt, und daß diese Schwächung seiner Anpassungsfähigkeit auf den Kampf zurückzuführen ist, den es während oder vielleicht auch noch nach der bakteriziden Phase gegen gewisse Milchbestandteile zu führen hat.

3. Die Bedeutung des Milchzuckers für die Keimverminderung.

Da es nun für Keimzahlbestimmungen keineswegs gleichgültig ist, welche Zusammensetzung die zur Isolierung der Bakterien aus frischer Milch verwendeten Nährböden besitzen, schien es wünschenswert, über den vermutlichen schädigenden Milchbestandteil noch Näheres zu erfahren.

Da von verschiedenen Seiten ein zu hoher Zuckergehalt als schädlich angesehen wurde, war es natürlich, daß sich das Augenmerk zuerst auf den Milchzuckergehalt der Milch richten mußte.

Smith (p. 3) hatte z. B. bei B. coli konstatiert, daß in 1-proz. Traubenzuckerbouillon die Säurebildung so stark ist, daß nach etlichen Tagen sämtliche Bakterien abgetötet sind (Temperatur von 36 bis 37° C). Seit diesen Versuchen hat man (nach Günther, p. 196) von der Verwendung 2-proz. Traubenzuckernährböden Abstand genommen und verwendet nur noch einen Zusatz von 0,3—0,5 Proz. Trauben- oder Milchzucker.

Nach meinen Beobachtungen spielt dabei auch die Temperatur eine große Rolle. Bei höherer Temperatur wird ein größerer Zuckergehalt schlechter vertragen. Bei gewöhnlicher Zimmertemperatur wachsen Coli-Bakterien auch auf 6-proz. Milchzuckernährboden. Dabei treten neben den normalen trägbeweglichen Formen zahlreiche unbewegliche lange Fäden oder kurze aufgetriebene Formen auf. Der Milchzuckeragar scheint das Entstehen derartiger Formen weniger zu begünstigen und es hat sich auch bei allen Untersuchungen gezeigt, daß Agarnährböden von den Coli-Bacillen besser vertragen werden.

Da nun die Kuhmilch nach Kirchner (p. 31) 3 bis 6,6, im Durchschnitt 4,7 Proz. Milchzucker enthält, so wurde eine Anzahl aus Milch isolierter Coli-Stämme in ihrem Verhalten auf 4-proz. Milchzuckeragar und 4-proz. Milchzuckergelatine geprüft. Alle lieferten mehr oder minder deutlich folgendes Resultat: Der vom Impfstrich ausgehende, anfänglich mehrere Millimeter breite, später oft tief gelappte und ausgebreitete Belag enthielt zweierlei Formen. Am Rande, wo die Kultur mit dem frischen Nährmaterial in Berührung kam, waren die Stäbchen 2—4 μ, auch 6—10 μ lang, 1 μ breit, unbeweglich, scheinbar blasse,

aufgetriebene, zarte und dünnwandige Gebilde mit glänzenden Polkörperchen an den Enden. In der Mitte des Impfstriches, wo der Zuckergehalt der Nährlösung offenbar durch die gebildeten Stoffwechselprodukte verändert war und wo die Individuen mehr Zeit gefunden hatten, sich dem höheren Milchzuckergehalt anzupassen, näherte sich die Form der Stäbchen mehr der normalen (1—2 μ lang, 0,7—0,8 μ breit) und zeigte sich auch manchmal träge Beweglichkeit.

Es ist natürlich, daß die verschiedenen Coli-Stämme auf diese Behandlung verschieden stark reagierten. Ausnahmsweise kam es bei einem Stamm auch bis zur Bildung von 30 μ langen Fäden, bei anderen Stämmen traten die längeren Formen nur vereinzelt unter den normalen auf.

Ein sicherer Beweis, daß dem Einfluß des Milchzuckers diese Formveränderung zuzuschreiben sei, konnte aber erst dann erbracht werden, wenn es gelang, durch Abimpfung der langen Formen auf einen geeigneten Nährboden eine Kultur zu erhalten, die nur normale Stäbchen enthielt und welche sich dann durch neuerliche Abimpfung auf 4-proz. Milchzuckernährböden wieder in die lange Form überführen ließ. In der Tat ist mir das auch durch die Anwendung zuckerfreien Agars gelungen.

Vollständig zuckerfreien Agar herzustellen, ist nach Beijerinck nicht möglich, da beim Kochen des Agars aus dem Kohlehydrat immer kleine Mengen von Zucker abgespalten werden. Die Herstellung erfolgte in der üblichen, von Smith angegebenen Form dadurch, daß der sterile Fleischsaft mit einer Reinkultur eines gärkräftigen Coli-Stammes geimpft und (nach Heim. p. 129) 14—16 Stunden im Brutschrank bei 37° C gelassen wurde. Dadurch wurde der aus dem Fleisch stammende Zucker vollständig vergoren.

Die auf 4-proz. Milchzuckernährböden abnormal gewachsenen Stämme ließen sich nun durch Abimpfung auf zuckerfreien bei Zimmertemperatur gehaltenen Agar auf die normale Form (1—1,2 μ zu 0,4—0,5 μ) zurückführen und konnte das allmähliche Verschwinden der langen Formen deutlich beobachtet werden.

Dem B. coli ähnliche Stämme, die vorher weder Beweglichkeit besessen und auch durch Abimpfung auf zuckerfreien Agar nicht erlangt hatten, mußten demzufolge als B. lactis aerogenes bezeichnet werden.

Die Ueberführung der normalen Formen in die früher geschilderten abnormalen durch Abimpfung auf 4-proz. Milchzuckernährböden bereitete keine Schwierigkeiten.

Wie hier nur nebenbei bemerkt werden mag, zeigten die Abimpfungen der coli- und aerogenesartigen Kolonieen auf peptonhaltigem, aber zuckerfreiem Agar oder zuckerfreier Gelatine einen intensiven, an Indol erinnernden Geruch, während die auf 4-proz. Milchzuckernährböden keinen unangenehmen oder höchstens etwas säuerlichen Geruch entwickelten. Diese Beobachtungen sind analog denen an Bakterien der Proteus-Gruppe, welche ebenfalls bei Gegenwart von Zucker keinen Fäulnisgeruch entwickeln (Kuhn).

Es scheint somit, daß das Absterben der Bakterien — vor allem gilt dies von B. coli commune — während der bakteriziden Phase der Milch zum Teil auf ihrem hohen Milchzuckergehalt beruht. Damit in Uebereinstimmung wäre auch die in der Literatur oft erwähnte Beobachtung, daß unverdünnte sterile Milch nicht von allen Coli-Stämmen bei Bruttemperatur zur Gerinnung gebracht wird. Daß die Bruttemperatur die Anpassung an den höheren Milchzuckergehalt bei vielleicht zu

sehr geschwächten Stämmen noch erschwert, wurde schon früher erwähnt. Eine weitere Bestätigung dieser Annahme brachte nun noch folgender Versuch:

Zwei Eprouvetten mit steriler Milch wurden mit einer Bouillonkultur eines lebhaft beweglichen Coli-Stammes geimpft, die eine in den Brutschrank gegeben, die andere bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach 24 Stunden wurden beide Eprouvetten zentrifugiert und der Bodensatz mikroskopisch untersucht. In dem Bodensatz der bei Bruttemperatur gehaltenen Eprouvette waren die meisten Stäbchen abgestorben, die übrigen waren unbeweglich. Ihre Form (1—1,5 μ zu 0,5 μ) hatten sie scheinbar nicht verändert. Der Bodensatz der bei Zimmertemperatur gehaltenen Milch war zwar geringer, zeigte jedoch lebhaft bewegliche Stäbchen von der angegebenen Form. Abgestorbene Individuen waren nicht zu sehen.

Bei einem zweiten Versuche verwendete ich unter streng aseptischen Kautelen gewonnene Milch und impfte je zwei Eprouvetten mit einer Bouillonkultur von B. lactis aerogenes. Nach 24 Stunden bestand der Bodensatz der beiden bei Bruttemperatur gehaltenen Eprouvetten fast nur aus abgestorbenen Formen. In den bei Zimmertemperatur aufbewahrten Eprouvetten hatten sich nur sehr wenige Keime entwickelt und zeigten auch Absterbeerscheinungen (zusammenklebende Haufen von Bakterien, Zooglöen).

Zu einem dritten Versuche verwendete ich nur etwa 20 ccm Rohmilch, die in eine sterile, mit Watte verschlossene Eprouvette hineingemolken wurde. Unmittelbar darauf wurde die Milch mit einer kleinen Menge frischen Kuhkots direkt vermengt und hierauf bei Zimmertemperatur (20—22° C) stehen gelassen. Nach 2 Tagen war noch keine Gerinnung eingetreten. In einem mikroskopischen Präparate zeigten sich außer sehr vielen abgestorbenen Formen nur 8—10 μ lange, 1 μ breite bewegliche Stäbchen, mit den bei B. coli früher beobachteten Polkörperchen an den Enden. Außer diesen traten nur noch sehr vereinzelt mit Lugolscher Lösung nachweisbare Buttersäurebacillen auf.

Es bestand somit der Verdacht, daß die gesehenen langen beweglichen Stäbchen nur die Anpassungsformen seien, die B. coli in frischer Rohmilch bildet. Eine am zweiten Tage gemachte Aussaat auf 3-proz. Traubenzuckergelatine zeigte, daß sich am folgenden Tage — abgesehen von einigen in Milch gewöhnlichen Schimmelpilzen — eine Reinkultur von Coli-Bacillen entwickelt hatte. Mikroskopisch glichen diese (mit Ausnahme der lebhaften Beweglichkeit) völlig der in der Milch gesehenen Form. Nach weiteren 24 Stunden waren die Kolonieen 3—5 mm im Durchmesser groß geworden, zeigten ein gelbliches punktförmiges Zentrum, von dem aus sich der zarte, durchscheinende, bläulich-graue, am Rande unregelmäßig gebuchtete Belag ausbreitete. Am Rande dieser Kolonieen waren nur 5—10 μ lange, 1 μ breite, scheinbar unbewegliche Formen mit Polkörperchen zu finden. In der Mitte fanden sich dagegen nur 1,5—2 μ lange, 0,8—1 μ breite, träg bewegliche und, nach dem Lichtbrechungsvermögen zu schließen, wohl auch etwas dichtere Formen, an denen die Polkörperchenbildung weniger ausgesprochen war. Traubenzucker wird von B. coli offenbar energischer angegriffen als Milchzucker.

Wenn nach Smith schon 1 Proz. Traubenzucker genügt, um nach einigen Tagen Bruttemperatur das Absterben von Coli-Bouillonkulturen herbeizuführen, so würde das teilweise Absterben der bei Bruttemperatur gehaltenen Coli- und Aerogenes-Kulturen in steriler Milch keines-

wegs wundernehmen. Durch das Sterilisieren werden ja die verschiedenen Nährstoffe in der Milch jedenfalls in einer für die Ernährung ungünstigen Weise beeinflußt.

Daß die sterile Kuhmilch auch für andere Bakterien nicht immer der geeignetste Nährboden ist, wurde in neuerer Zeit besonders von Czaplicki (p. 450) hervorgehoben. Derselbe beobachtete, daß die Choleravibrionen sogar während einer und derselben Epidemie nicht gleich in verschiedenen Milchproben gedeihen. Dasselbe wurde auch bei B. capsulatus und B. Friedländeri beobachtet. Wegen der Wichtigkeit dieser Arbeit für die vorliegenden Untersuchungen mögen hier noch einige Stellen zitiert werden, um die Bedeutung der Anpassung der Bakterien an die Milch klarer hervortreten zu lassen:

„Daß in roher Milch die Vibrionen nicht gleich gedeihen und erhalten werden, ist begreiflich und erklärbar durch den Antagonismus verschiedener Arten, durch den Unterschied der Reaktion, welche einigen nicht günstig ist, durch die Bildung der für die einen Arten schädlichen Produkte der anderen Mikroorganismen. Der Unterschied des Gedeihens in der sterilen Milch bei beständiger Reaktion muß von anderen Gründen abhängen: laut Serkowskis Forschungen beruht die Schuld der ungleichen Bakterienentwickelung in der Milch nicht nur hauptsächlich auf veränderlichen Eigenschaften ein und derselben Bakterienart, sondern auch auf der veränderlichen Zusammensetzung der Milch, in welcher sich oft Fett und Milchzucker im Ueberfluß befindet, und dieser Ueberfluß wirkt hemmend auf die Bakterienentwickelung."

„Der Ueberfluß an Milch- und Rohrzucker in den Nährböden ist für Bakterien entschieden schädlich (Smith), ebenso wirkt auch die Fettanhäufung auf die Bakterienentwickelung hemmend (Manfredi)."

Von diesem Grundsatze ausgehend untersuchte der Verfasser das Wachstum von 40 verschiedenen Bakterienarten in Milch gleichzeitig in 3 Proben: die erste war unverdünnt und mehrmals pasteurisiert, die zweite unverdünnt, aber sterilisiert (mit rosa Schattierung), die dritte mit Wasser verdünnt (1 : 1) und pasteurisiert. Das Resultat war folgendes:

„Die größte Entwickelung und die bedeutendste Peptonisation finden hauptsächlich in der verdünnten pasteurisierten Milch statt. In der gänzlich unverdünnten Milch, welche ebenso pasteurisiert worden war, war die Entwickelung schwächer, am schwächsten aber in der unverdünnten sterilen Milch. Je länger und bei je höherer Temperatur die unverdünnte Milch erwärmt wird, desto schwieriger wachsen in ihr die Bakterien."

Bezüglich der Koagulation der Milch durch Vibrio cholerae asiaticae ist besonders folgende Tabelle instruktiv:

Stammkultur (Epidemie)	Verdünnte Milch	Unverdünnte pasteurisierte Milch	Unverdünnte sterilisierte Milch
Vibrio cholerae asiaticae Král	+	—	—
„ „ „ Charbarowsk	+	—	—
„ „ „ Moskau	+	±	—
„ „ „ Kollektion	+	+	—
„ „ „ Blumenthal	+	+	—
„ „ „ Charbin	+	±	—
„ „ „ Akkermann	+	+	—
„ „ „ Hamburg	+	+	±?

Außer natürlicher Milch benützte der Verfasser auch verschiedenprozentige Lösungen von Milchpulver (Galakton) in Wasser und bemerkt unter anderem, daß B. coli die schwächeren Verdünnungen rascher zur Koagulation brachte.

4. Die Theorie der Keimverminderung wegen Störungen des osmotischen Systems der Bakterienzellen.

Wenn auch die Schädlichkeit des Milchzuckergehaltes der Kuhmilch durch die bisherigen Untersuchungen als erwiesen schien, so wäre es doch weit gefehlt, die Abnahme der Keimzahl während der bakteriziden Phase nur dem Milchzucker allein zuzuschreiben und vielleicht ähnliche Wirkungen des Zuckers, wie in den Versuchen von Smith anzunehmen, denn diese rein chemische Erklärung läuft ja darauf hinaus, das Absterben der Bakterien in Milch so zu erklären, daß sie durch ihre eigenen aus dem Milchzucker gebildeten Stoffwechselprodukte (Milchsäure etc.) abgetötet werden. Nun findet aber während der bakteriziden Phase, wenn überhaupt, so doch keineswegs eine so bedeutende Säureproduktion statt, als daß dadurch allein das Zugrundegehen der Keime in frischer Rohmilch herbeigeführt werden könnte. In der letzteren könnten ja spezifisch wirksame bakterizide Stoffe zur Erklärung herbeigezogen werden; dann bliebe aber immerhin noch das Absterben der Keime in steriler Milch zu erklären.

Um für diese Fragen eine befriedigende Lösung zu finden, müssen wir berücksichtigen, daß es beim Wechsel des Nährmediums nicht nur auf seine chemische, sondern auch auf seine physikalische Beschaffenheit ankommt.

Es braucht wohl kaum erwähnt zu werden, daß nach Fischers bekannten Forschungen beim Uebergang plasmolysierbarer Bakterien in ein Medium, dessen osmotischer Druck höher ist als derjenige im Innern der Bakterienzelle, Störungen des letzteren eintreten, die unter Umständen das Zugrundegehen der Mikroorganismen zur Folge haben können. Nun kann aber auch durch sogenannte Turgorregulation eine Anpassung an diesen Zustand eintreten. Daß bei diesem Anpassungsversuche die sonderbarsten Formen auftreten können, ist nicht zu verwundern.

So nimmt bekanntlich nach Heim (p. 207) B. lactis aerogenes auf 3-proz. Kochsalzagar große aufgetriebene Formen an und Matzuschita hat bei den zu derselben Gruppe gehörigen Coli-Bacillen gefunden, daß ihre Form bei einem Kochsalzgehalt der Agarnährböden von 0—8 Proz. an Dicke zunahm; bei 5,5—6,5 Proz. Kochsalz finden sich vereinzelte Spindel- und Keulenformen, bei 8,5 Proz. Kochsalz höchst auffallende groteske Wurzelformen; gleichzeitig wird das Wachstum beeinträchtigt. Bei 10,5 Proz. sind die Individuen wieder kleiner.

Ich erhielt auf 8-proz. Kochsalzagar bei B. coli ebenfalls zum Teil abgestorbene, zum Teil Fadenformen.

Es soll nun in folgendem versucht werden, den osmotischen Wert der Milch zu bestimmen, um beurteilen zu können, ob bei Uebertragung der Bakterien in Milch osmotische Störungen eintreten werden.

Wenn man die chemische Zusammensetzung der in einer Lösung enthaltenen Salze kennt, so ist es möglich, auf rechnerischem Wege nach einer von de Vries angegebenen Formel ihren osmotischen Wert zu berechnen. Demnach berechnet sich die Konzentration der mit

0,1 norm. = 1,01 Proz. KNO_3 isotonischen Lösungen nach der Formel: $\frac{\text{Mol.-Gew.}}{\text{Isot. Koëff.}} \times 0{,}03$. (n = norm. ist bekanntlich das Molekulargewicht im Liter gelöst, also für KNO_3 = 101,14 in 1000 oder 10,1 in 100; 0,1 n ist dann eine 1,01-proz. KNO_3-Lösung).

Die isotonischen Koëffizienten sind nach de Vries:

1) für organische metallfreie Verbindungen 2
2) „ „ und anorg. Salze der Alkalien mit 1 At. Metall im Mol. 3
3) „ „ „ „ „ „ „ „ 2 „ „ „ „ 4
4) „ „ „ „ „ „ „ „ 3 „ „ „ „ 5
5) „ „ oder „ „ „ Erdalkal. „ 1 „ org. od. anorg. Säure im Mol. 2
6) „ „ „ „ „ „ „ „ 2 „ „ „ „ „ „ „ 2

In der folgenden Tabelle sind in der ersten Spalte die prozentischen Mengen der einzelnen Salze angeführt, wie sie nach Söldners Untersuchungen in einem Liter Milch mit 9,056 g Salzen enthalten waren, in der zweiten Spalte das den einzelnen Verbindungen entsprechende Molekulargewicht, in der dritten der ihnen entsprechende isotonische Koëffizient. Auf Grund dieser Zahlen läßt sich dann mit Hilfe der angegebenen Formel für jede einzelne Verbindung die Konzentration der mit 0,1 norm. = 1,01 Proz. KNO_3 isotonischen Lösung berechnen. Auf die prozentische Menge der Salze bezogen, ergibt sich dann mit Hilfe der Zahlen der vierten Spalte der jeder Verbindung entsprechende osmotische Druck, ausgedrückt in 0,1 norm.

In Proz. der Milch		Mol.-Gew.	Isot. Koëff.	0,1 n =	Osmot. Druck der Milchsalze in 0,1 n
NaCl	0,093	58,4	3	0,58400	0,01592
KCl	0,081	74,5	3	0,74500	0,01088
KH_2PO_4	0,112	136,12	3	1,36120	0,08228
K_2HPO_4	0,081	174,21	4	1,30657	0,06199
$K_3C_6H_5O_7$	0,048	306,35	5	1,83810	0,02611
$MgHPO_4$	0,033	120,41	2	1,80115	0,01887
$Mg_3(C_6H_5O_7)_2$	0,036	451,30	4	3,38475	0,01063
$CaHPO_4$	0,065	136,11	2	2,04165	0,03183
$Ca_3(PO_4)_2$	0,078	310,30	4	2,32725	0,03351
$Ca_3(C_6H_5O_7)_2$	0,207	498,4	4	3,73800	0,05537
				Summe	0,34739
$C_{12}H_{22}O_{11}$	4,7	342,22	2	5,13330	0,91559
				Gesamter osmot. Druck	1,26298

Unter den Salzen ist das an Kasein gebundene Calciumoxyd nicht angeführt. Es ergibt sich somit, daß — mit Hinzurechnung des Milchzuckers — die Milch einen osmotischen Wert von 1,26298 0,1 norm. = 0,126298 norm. besitzen würde. Wie sich leicht ausrechnen läßt, wäre sie dann isotonisch mit einer 1,276-proz. KNO_3-Lösung oder einer 0,737-proz. NaCl-Lösung. Nun muß aber berücksichtigt werden, daß dieser Wert noch durch die Menge des gelösten Laktalbumins (0,5 Proz.) erhöht wird. Daß die gefundenen Werte für den osmotischen Druck durch Dissoziation der Salze in ihre Ionen noch eine weitere Erhöhung erfahren könnten, mag hier unberücksichtigt bleiben.

Vergleicht man mit diesen Zahlen den für das Blutserum ermittelten Wert (wonach dieses mit einer 0,92-proz. NaCl-Lösung isotonisch ist), so ergibt sich, daß der osmotische Wert des Laktoserums ungefähr dem des Blutserums gleichgesetzt werden kann.

Bekanntlich sind zur Erklärung der bakteriziden Eigenschaften des Blutserums (von Baumgarten und Walz sowie von A. Fischer I)

auch dessen physikalische Eigenschaften bezw. sein Salzgehalt herangezogen worden.

Lehmann und Neumann (p. 102) und andere Autoren heben aber hervor, daß die Ansicht, die „Alexin“wirkung im Serum könne schon allein durch Berücksichtigung des veränderten osmotischen Drucks bei gleichzeitigem Mangel an wichtigen Nährstoffen erklärt werden, sich als zu einseitig erwiesen hat. Nach den genannten Verfassern spielen diese Verhältnisse bei der Abtötung gewiß auch eine Rolle, aber sie reichen nicht zur Erklärung der Serumwirkung aus.

Es war daher notwendig, bezüglich des Laktoserums zunächst ähnliche Behauptungen aufzustellen, bevor seine Bakterizidie auf andere Ursachen zurückgeführt werden konnte.

Der osmotische Druck im Innern der Bakterienzelle ist von Fischer (II. p. 26) z. B. für den Choleravibrio auf Agar (ohne besonderen NaCl-Zusatz mit 0,04 norm. allgem. osmotischer Leistung) gleich dem einer 0,04—0,06 norm. NaCl-Lösung (= 1,4—2,1 Atm., durchschnittlich 1,75 Atm.) gefunden worden. Gleichzeitig wird bemerkt, daß der Turgor der Bakterienzelle im allgemeinen niedriger als der der Landpflanzen (0,12 bis 0,24 norm.) sein wird.

Der osmotische Wert der Milch (0,12698 norm.) liegt also bedeutend höher als der für den Turgor der Bakterien ermittelte Wert, und es ergibt sich somit von selbst, daß die in frische Rohmilch gelangenden Bakterien vor die Notwendigkeit gestellt werden, sich diesem höheren Werte anzupassen.

Die impermeable Gruppe der Bakterien muß also sofort in den Zustand der Plasmolyse eintreten. Die Dauer derselben kann nach Fischer (II. p. 29) je nach dem Grade der spezifischen Impermeabilität für den plasmolysierbaren Stoff zwischen $^1/_4$ Stunde, 1 bis 2 Stunden und noch länger schwanken. Allerdings ist auch die Reaktion des Nährmediums dabei zu berücksichtigen, unter deren Einfluß die Impermeabilität beträchtliche Veränderungen erleiden kann.

So wurde von de Vries (nach Fischer. II. p. 27) festgestellt, daß Pflanzenzellen mit rotem Saft (Tradescantia), die von 0,42 norm. Salpeter oder Kochsalz äußerst scharf plasmolysiert werden, also nahezu total impermeabel sind, für die Salze ganz permeabel geworden waren, als 0,0425 Proz. Ammoniak einige Zeit (1—2 Stunden) gewirkt hatte; es trat keine Plasmolyse mehr ein. Ebenso wirkten schwache Säurezusätze, z. B. 0,25 Proz. Salzsäure.

Wenn auch sicher ist, daß die impermeable Gruppe der Bakterien in Milch sofort plasmolysiert werden muß, so können sie jedoch keinesfalls viele Stunden lang im Zustande der Plasmolyse verharren. Ihr Schicksal müßte sich binnen viel kürzerer Zeit entscheiden, wenn es sich bei ihnen nur um rein osmotische Störungen handeln würde.

Bezüglich permeabler Bakterien sagt Fischer (II. p. 29), „daß in Lösungen aller Stoffe, für die eine Bakteriengruppe ganz permeabel ist, rein osmotische Störungen ausgeschlossen sind“.

Ihre Vernichtung in hyperosmotischen Lösungen ist also für die Theorie der Keimverminderung aus rein osmotischen Ursachen eine schwierige Frage. Fischer bemerkt hierzu (II. p. 29): „Tritt nun aber zu den Konzentrationsänderungen auch noch infolge Temperaturänderung, erhöhter Alkaleszenz oder Säure eine Aenderung der Impermeabilität,

wird der letzte Rest von Impermeabilität, den die permeable Gruppe immer noch besitzt, getilgt, so entsteht unter dem Anscheine einer osmotischen Störung eine andere viel tiefer eingreifende, eine Impermeabilitätsstörung.

Daß in Milch zu den genannten schädigenden Momenten sowohl bei permeablen als auch bei impermeablen Bakterien auch noch andere dazu kommen müssen, um die Bakterizidie zu erklären, soll im folgenden gezeigt werden.

Wie Buchner (p. 48) bemerkt hat, kommt in reinen Salzlösungen neben der Salzwirkung auch noch die Hungerwirkung dazu, und auch Fischer bemerkt, daß die Zellen am schnellsten geschädigt werden, wenn ihnen zugleich die Nahrung entzogen wird. Damit in Uebereinstimmung steht die Beobachtung von Finkh an B. coli, daß die bakterizide Wirkung des Serums durch Zusatz von Nährstoffen (z. B. 2 Proz. Pepton und Magnesiumsulfat) vollständig aufgehoben werden kann. Auch Fischer sagt (I. p. 49): „Beseitigt man durch Zusatz von Nährstoffen die Hungerwirkung, so wird zwar die osmotische Störung etwas besser vertragen, aber spurlos kann sie, als die stärkere, schon in wenigen Minuten beginnende Schädigung, natürlich nicht vorübergehen."

Die früher erwähnten morphologischen Veränderungen des aus frischer Milch isolierten B. coli commune sind ein deutlicher Beweis dafür, daß an diesen Stäbchen die osmotische Störung nicht spurlos vorübergegangen ist.

In welcher Weise tritt nun in der frischen Rohmilch die Anpassung an den höheren Salz- und Zuckergehalt, die sogenannte Turgorregulation, ein?

Ueber diese das Wesen der Anpassungserscheinungen tief berührende Frage kann an dieser Stelle nicht viel mehr gesagt werden, als bereits bekannt ist. Nach Behrens steht den plasmolysierten Organismen außer der Aufnahme des plasmolysierenden Körpers in die Zelle als weiteres Mittel zur Erhöhung des osmotischen Innendruckes und damit zur Wiederherstellung der Turgeszenz die Eigenproduktion osmotisch wirksamer Körper, das Vermögen der selbsttätigen Turgorregulation, zur Verfügung. Beide, Permeabilität und selbsttätige Turgorregulation, vermöge welcher natürlich auch osmotisch wirksame Stoffe zerstört oder in osmotisch unwirksame übergeführt werden können, wirken voraussichtlich zusammen, wenn die bei Störung der Turgeszenzverhältnisse durch Eintragen in konzentriertere oder in verdünntere Lösungen, also durch Herabsetzung oder plötzliche Erhöhung des Turgors eingetretene Wachstumsstörung (Systierung oder Verlangsamung) nach einiger Zeit wieder zurückgeht und normalem Wachstum Platz macht.

Bezüglich des B. coli commune und anderer Milchzucker vergärender Arten kann man die sehr naheliegende Annahme machen, daß es von den in der Milch gelösten Stoffen hauptsächlich den Milchzucker dadurch osmotisch unwirksam zu machen suchen wird, daß es den Ueberfluß desselben zum Aufbau der Leibessubstanz oder zur Energieproduktion verwenden wird. Die Möglichkeit dieser Annahme ist ja durchaus gerechtfertigt, da die in der Milch gelösten Stoffe nicht wie reine Salzlösungen nur rein physikalisch wirken, sondern auch als Nährstoffe. Wenn nun in diesem Zustande B. coli commune von allen ihm zur Verfügung stehenden Kräften normalerweise Gebrauch machen könnte, dann brauchte eigentlich eine Verminderung der Keimzahl in frischer Rohmilch überhaupt nicht einzutreten oder nicht so lange anzudauern.

Das ist schon eine Andeutung dafür, daß die Annahme rein osmotischer Störungen zur Erklärung der Bakterizidie nicht ausreichen wird. Vorläufig mag aber trotzdem der Versuch gemacht werden, andere Beobachtungen zur Stütze obiger Ansicht herbeizuziehen.

Wie Klebs nachgewiesen hat, sind die Grenzen für das fruktifikative Wachstum viel enger gezogen als die, innerhalb deren sich das vegetative Leben abspielt. Es ist daher wohl möglich, daß das Uebermaß des aufgenommenen Milchzuckers und der übrigen gelösten Milchbestandteile wohl eine Vergrößerung des Individuums auf das Zehn- und Mehrfache gestattet, daß aber derartige hypertrophische Individuen nicht mehr die Fähigkeit der Vermehrung besitzen. Aehnliche Beispiele für die geschwächte Vermehrungskraft hypertrophischer Individuen sind ja aus der allgemeinen Biologie zur Genüge bekannt.

Von diesem Gesichtspunkte ausgehend, ließe sich auch das Zustandekommen der bis zu 10 μ langen Formen mit den glänzenden Plasmaansammlungen an den Enden bei B. coli commune erklären. Es wäre ja immerhin denkbar gewesen, daß das Uebermaß des aufgenommenen Milchzuckers als Reservestoff abgelagert wird, um so eher als Heinze (p. 53) unter den glykogenbildenden Organismen auch B. coli commune und B. lactis aerogenes anführt. Allerdings sind die Bedingungen der Glykogenbildung noch nicht zur Genüge bekannt und es gelang mir auch nicht, nach der von Heinze angegebenen Methode Glykogen bei diesen Mikroorganismen mit Sicherheit nachzuweisen. Wohl aber machte ich durch diese bei 1000-facher Vergrößerung ausgeführten Beobachtungen die Erfahrung, daß sich durch Färbung mit starker Jodjodkaliumlösung in den aufgetriebenen Individuen deutlich eine große zentrale Vakuole wahrnehmen ließ, während das mit Jod gelbgefärbte Plasma durch dieselbe an beiden Enden zusammengedrückt wurde. Die Plasmolysierbarkeit der Coli-Bacillen setzt ja das Vorhandensein einer oder mehrerer Vakuolen voraus.

Demnach wären die bis zu 10 μ langen Formen zarte, nur mit Zellsaft erfüllte Protoplasmaschläuche, die nur an den Enden etwas dichteres Gefüge besitzen. Das Aussehen der längsten, sehr blassen Formen erinnerte ganz an dasjenige feinster Mycelenden von Schimmelpilzkolonieen. Je mehr sich die Form der normalen, beweglichen näherte, um so mehr nahm auch ihr Lichtbrechungsvermögen zu.

Verschiedene von Pfaundler in Kolle und Wassermanns Handbuch (Bd. II. p. 340) zitierte Autoren behaupten, bei B. coli commune einen Kern gesehen zu haben, der nach einigen sogar die ganze Zelle ausfüllen soll. Aber schon die verschiedene Gestalt der beschriebenen Kerne und die von mir bei B. coli gemachten Beobachtungen sprechen dafür, daß diese vermeintlichen großen Kerne Vakuolen gewesen sind.

5. Die Bedeutung spezifisch bakterizider Stoffe für die Keimverminderung. (Die Theorie der Alexine.)

Bis dahin scheint es also möglich, auf Grund der Beobachtungen an den auf 4-proz. Milchzuckernährböden aufgetretenen Formen zu behaupten, daß auch in Milch der Milchzuckergehalt zu ähnlichen Formveränderungen führen werde, nur daß die so entstandenen Gebilde dort viel leichter absterben. Durch das früher geschilderte Verhalten der Coli-Formen (reichliches Absterben und Auftreten bis zu 10 μ langer Formen) in

der mit Kuhkot geimpften frischen Rohmilch wurde diese Annahme auch bestätigt.

Auf der Gelatine muß aber von dem Moment des Ausstriches angefangen oder nur kurze Zeit nachher eine Zunahme der Keimzahl angenommen werden. Das leichtere Absterben der Keime in frischer Rohmilch ist aber mit den schon vielfach bestätigten Angaben, daß in hyperosmotischen Lösungen bei Gegenwart von Nährstoffen keine Abnahme der Keimzahl stattfindet, schwer zu vereinigen.

Der Versuch, die Keimverminderung in frischer Rohmilch aus rein osmotischen Ursachen zu erklären, begegnet also bedeutenden Schwierigkeiten, da die zweifellos eintretende osmotische Störung bei dem hohen Gehalt der Milch an Nährstoffen in viel früherer Zeit ausgeglichen werden müßte.

Wenn auch im Blutserum die Ernährungsverhältnisse für die Bakterien anders liegen (sein hochmolekulares Eiweiß ist für die Bakterien nicht direkt angreifbar), so hat es doch nicht an Einwänden gegen die Ansicht gefehlt, daß die bakterizide Wirkung des Blutserums allein auf osmotisch-nutritive Störungen zurückgeführt werden könnte.

Was früher schon erwähnt wurde, muß auch hier gelten: die osmotische Störung tritt zweifellos bei allen Individuen mehr oder weniger gleichzeitig ein, und wenn die Bakterien während dieser Zeit von keinen anderen schädigenden Momenten betroffen würden, müßte die bakterizide Phase auch im Blutserum sehr bald vorübergehen.

In der Tat muß man diesbezüglich v. Lingelsheim (I. p. 136) recht geben, welcher sagt, „daß selbst die einwandfreie Feststellung osmotischer Störungen solange für die Beurteilung der keimvermindernden Ursache nicht beweiskräftig wäre, als nicht die Abwesenheit aller lytisch oder sonst schädigend wirkenden Körper erwiesen ist". v. Lingelsheim sucht noch durch eine Reihe von Experimenten nachzuweisen, daß die bakterizide Wirkung des Blutserums nur auf diese fermentartig wirkenden lytischen Stoffe, die sogenannten Alexine (Buchners) zurückzuführen sei. Am überzeugendsten spricht vielleicht der Vergleich der bakteriziden Wirkung des Blutserums mit einer Kochsalzlösung von gleichem Salzgehalt bei verschiedener Einsaatmenge von Bakterien (I. p. 48). Das Ergebnis war, „daß die bakterizide Wirkung von Salzlösungen nur bei geringer Aussaat sich mit der des Blutserums vergleichen läßt. Impfen wir reichlicher, so wird der Unterschied überaus deutlich; es tritt dann die Keimverminderung durch Salzlösungen der Serumwirkung gegenüber völlig in den Hintergrund".

Auf p. 152 heißt es dann weiter: „Wir sehen also, daß, entgegen der Fischerschen Annahme, das Blutserum durch Erhöhung des Salzgehaltes — gleichviel ob dieselbe durch Einengen oder durch Zusetzen von Blutsalzen geschieht — nicht wirksamer wird, sondern im Gegenteil an Wirksamkeit beträchtlich verliert. Es zeigt sich weiter, daß durch Verdünnung solchen konzentrierten Serums — also durch Herabsetzung des Salzgehaltes — die bakterizide Kraft wiederhergestellt wurde."

Dem gegenüber weist Fischer auf die Veränderlichkeit der Impermeabilität durch die Reaktion des Mediums hin (II. p. 341): „Viel wichtiger, geradezu fundamental, ist die Alkaliwirkung des Serums. Nicht etwa, daß die geringe Menge von 0,045 Proz. Na_2CO_3 das Protoplasma in dem Sinne tötet, wie Sublimat und andere Gifte töten, dazu sind höhere Konzentrationen, 0,5—1 Proz. Soda erforderlich. Aber die al-

kalischen Salze des Serums erhöhen die Permeabilität des Bakterienprotoplasmas und stören dadurch das osmotische System, dessen Turgor nicht durch den Salzgehalt des Serums allein, sondern viel nachhaltiger durch das Alkali aufgehoben wird. Hierdurch entturgorisiert können die Bakterien nicht mehr wachsen und sterben, weil das zum Leben unentbehrliche osmotische System vernichtet ist. Seine Empfindlichkeit, begründet auf der Empfindlichkeit des Protoplasmas, ist die Ursache der Scheinbakterizidie des Serums.“

Ferner (II. p. 339): „Sowohl das Serum, als auch das auf sein Volum gebrachte alkalische Dialysat verlieren ihr bakterizides Vermögen durch Neutralisation mit Essigsäure; es wird wiedererweckt durch Wiederherstellung der ursprünglichen Reaktion. Physiologische Kochsalzlösung mit kohlensaurem Natron auf die Alkaleszenz des Serums gebracht, wird voll bakterizid.“

Diese durch v. Lingelsheim (I) festgestellte Tatsache wird nun noch durch eine Tabelle erläutert und Fischer bemerkt weiter hierzu: „Aus dieser Tabelle geht überzeugend hervor, daß die Alkaleszenz des Blutes, so gering sie ist, die Hauptursache der Erscheinungen sein muß. Auch nach anderer Richtung dürfte die Alkaleszenz des Blutes recht bald in den Vordergrund der Untersuchungen treten. Man hat gefunden, daß allgemein bei Infektionen und bei Vergiftungen, sei es mit Bakterientoxin, sei es mit anderen Giften, das Blut schwächer alkalisch wird und daß, falls der Körper sich erholt, die Alkaleszenz wieder zur Höhe des Gesunden ansteigt. Da nun bei denselben Tierspecies die Blutalkaleszenz der einzelnen gesunden Individuen schwankt, z. B. bei Kaninchen für 1 g Serum zur Neutralisation zwischen 1,15—2,96 ccm $^1/_{50}$ norm. Schwefelsäure, so ergibt sich hieraus, daß die Bakterizidie des Serums ebenfalls sehr schwanken muß, was auch zutrifft.“

Dazu muß bemerkt werden, daß diese Erscheinung ebenso gut auch durch Schwankungen des Alexingehaltes erklärt werden könnte. Daß solche vorkommen, wird in später zu erwähnenden Beobachtungen mitgeteilt werden.

Die von v. Lingelsheim über den Einfluß der alkalischen Reaktion des Blutserums angestellten Versuche ergaben folgendes Resultat (I. p. 159):

„Ueber die tötenden Eigenschaften der alkalischen Blutsalze ergab sich, daß in nährstoffreien Salzlösungen ein geringer Alkaligehalt eine energisch bakterizide Wirkung ausübt, nicht aber im Serum, daß hier vielmehr eine Herabsetzung derselben trotz Erhöhung der Alkaleszenz eintritt, wenn zugleich die Konzentration der Neutralsalze erhöht wird. Kurz — wird die Wirkung des Alexins gehemmt, so vermag ein Plus von Alkali die bakterizide Kraft nicht zu verstärken.“

Ferner (I. p. 164): „Es kommt also darauf an, daß die Bakterien Zeit gewinnen und dieses können wir künstlich bei den schnellwirkenden Sera durch den kleinen Salzzusatz, der die Alexinwirkung hemmt, herbeiführen. Bei denjenigen Bakterienarten, wo das Alexin überhaupt von Haus aus langsam wirkt, ist der Salzzusatz nicht notwendig.“

Einer Verallgemeinerung der aus der Alkaleszenz des Blutserums gezogenen Folgerungen stehen nun auch folgende Bemerkungen v. Lingelsheims entgegen (I. p. 160):

„Die Alkaleszenz des Serums ist nun aber nicht gegenüber allen Bakterien eine wesentliche Bedingung für die Wirksamkeit. Prüfen wir Kaninchenserum anstatt gegen Milzbrandbacillen gegen Typhusbacillen,

so zeigt sich kein Unterschied zwischen dem neutralen und dem alkalischen Serum."

Ferner (I. p. 161): „Ganz allgemein darf man also die Alkaleszenz nicht mit der Wirkung der Alexine in Verbindung bringen. Es ist vielmehr erforderlich, die Bedeutung der Reaktion für jedes Serum und gegenüber der besonderen Bakterienart für sich festzustellen."

Da nun die Milch infolge ihres Gehaltes teils an sauren, teils an neutralen Alkali- und Kalkphosphaten zugleich sauer und alkalisch, also amphoter reagiert, so würde der Versuch, die Bakterizidie des Laktoserums ähnlich wie die des Blutserums durch Schwankungen des Alkaligehaltes zu erklären, sehr gezwungen erscheinen. Es ergibt sich daraus, daß ebenso wie beim Blutserum auch im Laktoserum noch andere Stoffe zur Erklärung der Bakterizidie berücksichtigt werden müssen.

Auch v. Lingelsheim gelangt am Schlusse seiner Untersuchungen dazu, das Vorhandensein eines bakteriziden Stoffes im Blutserum annehmen zu müssen (I. p. 161):

„Aus den bisherigen Ausführungen ging hervor, daß wir mit einer Reihe von Eingriffen die bakterizide Wirkung des Blutserums herabsetzen können, die weder die osmotische Anstrengung für die Bakterien vermindern, noch die Kompensierung der osmotischen Ueberanstrengung durch Zufuhr geeigneten Nährmaterials erleichtern. Die Wirkung aller dieser Eingriffe war nur verständlich, wenn wir uns außer den Salzen ein bakterizides Agens im Serum vorstellen, das mit den von den Fermenten bekannten Eigentümlichkeiten ausgestattet, den Bakterienleib angriff. Nicht so klar für die Beurteilung liegen zunächst die Verhältnisse, wenn wir die Serumwirkung durch Zusätze nährender Mittel paralysieren. Von diesen wissen wir, daß sie die Bakterienzelle sowohl gegen den Einfluß osmotischer Druckschwankungen wie den von gelösten Noxen in gewissen Grenzen schützen können. Welche Schädlichkeiten hier unter Zuhilfenahme der Nährstoffe von dem Bakterienprotoplasma paralysiert werden, ist a priori nicht zu ersehen."

Die Vermutung von dem Vorhandensein derartiger Stoffe im Blute wird immer mehr zur Gewißheit, wenn wir noch folgende zwei von Lehmann und Neumann (p. 102) zitierte Versuche berücksichtigen: Züchtet man Bakterien in durch Erhitzen abgetötetem Serum, so sterben die Bakterien jetzt auf Zusatz einer kleinen Menge frischen Serums vom selben Tier ab — obwohl dieser Zusatz weder die Salzkonzentration noch die Menge der Nahrungsstoffe ändert (Buchner). — Die bakteriziden und globuliziden Stoffe des Blutserums lassen sich durch Schütteln mit Pflanzenschleim (am besten zähflüssiges, gut filtriertes 1—1,3-proz. Dekokt von Lichen Carrageen) abscheiden. Nach einigem Stehen senkt sich der Schleim zu Boden und das Serum ist nun frei von wirksamen Stoffen (v. Lingelsheim). Der Autor bemerkt noch hierzu (II. p. 316), daß bei der Ausfällung sowohl der Ambozeptor als auch das Komplement betroffen wird.

Es wäre interessant, ähnliche Versuche an Laktoserum anzustellen, doch sollen im folgenden auch andere Beobachtungen mitgeteilt werden, welche die Annahme bakterizider Stoffe im Laktoserum als berechtigt erscheinen lassen.

Ueber das Vorhandensein der Buchnerschen Alexine im Blutserum, die gegenwärtig bekanntlich als Komplemente bezeichnet werden, besteht heute kein Zweifel mehr

und es ist leicht einzusehen, daß bei ihrer Abwesenheit die durch den Salzgehalt des Blutes hervorgerufenen osmotischen Störungen bei den Bakterien viel schneller ausgeglichen sein müßten. Ebenso müßte in der bakteriziden Milch durch die reichlich vorhandenen assimilierbaren Nährstoffe, ähnlich wie bei den Versuchen Finkhs mit Bouillonkulturen, die Anpassung der Bakterien sehr erleichtert werden.

Die naheliegende Annahme, daß *die in der Milch vermuteten spezifisch* bakteriziden Stoffe aus dem Blute stammen, kann man nur in solchen Fällen machen, wo eine Immunität gegen Bakteriengifte (Ektotoxine) oder Pflanzengifte (Ricin) künstlich hervorgerufen wurde, wo also der von den angegriffenen Zellen gebildete Ueberschuß von Seitenketten (Rezeptoren) frei im Blute zirkuliert.

So wurde z. B. durch Ehrlich festgestellt, daß Antitoxine in die Milch überzugehen vermögen und daß dann durch Säugung Immunität hervorgerufen werden kann.

In allen anderen Fällen, wo der Körper gegen Endotoxine der Bakterien kämpft, kann man nicht die Annahme machen, daß regelmäßig der Zustand der natürlichen Immunität gegen eine bestimmte bakterielle Infektionskrankheit einerseits und die Anwesenheit von Substanzen im Blutserum, die auf die entsprechenden Bakterien schädigend wirken, andererseits zusammenfallen. Es hat sich vielmehr (nach Günther p. 339) durchgängig die Tatsache als zutreffend erwiesen, daß Individuen, welche von Natur immun sind, gegen eine bestimmte Infektionskrankheit in ihrem Blutserum keine immunisierenden Substanzen haben. Diese Substanzen sind also niemals von Natur aus in einem Individuum vorhanden, sondern sie müssen immer erst gebildet werden, und zwar geschieht dies bei der Immunisierung.

Was speziell die Milchdrüse anbelangt, so scheint (nach Weigmann p. 5) die Tatsache, daß es in mehrfachen Fällen gelungen ist, sterile Milch aus dem Euter zu gewinnen, eher dafür zu sprechen, daß im allgemeinen die Drüsenbläschen sterile Milch absondern, und daß ein Uebertritt von Blutbestandteilen und von im Blute enthaltenen Bakterien in die Milch für gewöhnlich nicht statt hat.

Wenn wir also zu der Annahme spezifisch bakterizider Stoffe (Alexine) in der Milch gezwungen sind, so können diese nur aus den Drüsenepithelzellen stammen, sei es, daß sie von den noch im Gewebe tätigen Zellen abgesondert werden, sei es, daß sie erst dann frei werden, wenn sich gelegentlich der Milchbildung einzelne Drüsenzellen im Sekret auflösen. In beiden Fällen wäre diese Art der natürlichen Immunität als lokale Immunität zu bezeichnen.

Für die Wahrscheinlichkeit des Vorkommens einer lokalen Immunität gegen Typhusbacillen sprechen besonders die interessanten Versuche von Wassermann und Citron, welche zeigten, daß auch bezüglich der Peritoneal- bezw. Pleuralzellen bei intraperitonealer bezw. pleuraler Vorbehandlung mit Typhusbacillen die Möglichkeit der Antikörperbildung besteht. Die Verff. betonen ferner (p. 335), „daß diejenigen Zellen, welche imstande sind, zuerst und in genügendem Maße die spezifischen Stoffe der Typhusbacillen an sich zu binden, Antikörper produzieren können, und daß daher Milz, Knochenmark und Lymphdrüsensystem nicht (wie Pfeiffer und Marx meinten), das ausschließliche Privileg für diese Funktion, wenigstens bei Typhusbacillen haben“.

Daß aber der Nachweis der bei der lokalen Immunität entstehenden

Schutzstoffe keineswegs mit denselben Mitteln wie bei der künstlichen Immunität möglich ist, geht besonders aus folgender Stelle klar hervor (p. 337): „Die Tatsache, daß nicht ein bestimmtes Organgewebe, sondern die verschiedensten Zellen, je nach der Gelegenheit, die sie haben, spezifische Stoffe zu binden, Antikörper produzieren können, ist praktisch sehr wichtig, besonders wenn wir berücksichtigen, daß diese lokale Antikörperproduktion unter Umständen sehr schnell, schon innerhalb der ersten 24 Stunden, erfolgen kann. Dabei müssen wir noch berücksichtigen, daß wir so geringe Mengen von Antikörpern, wie sie bei der Infektion durch wenige eingedrungene Bakterien in Frage kommen, überhaupt mit unserer Versuchsordnung nicht nachweisen können. Denn wir erhalten klare und sichere Immunitätsreaktionen mit Gewebsextrakten und Gewebsflüssigkeiten ja erst dann, wenn in diesen Organsubstanzen ein größerer Ueberschuß von Antigenen vorhanden ist".

Es ließen sich noch zahlreiche andere Fälle zu Gunsten des Vorhandenseins einer lokalen Immunität anführen, es sei hier aber nur das von den beiden Verfassern (p. 338) erwähnte Beispiel herausgegriffen, daß das Darmepithel eines Menschen nach Ueberstehen des Typhus und infolge Ueberstehens dieser Krankheit unempfänglich für die Typhusbacillen geworden ist, daß diese Typhusbacillen in dieses Darmepithel nicht mehr eindringen können.

Aehnlich dürfte auch im Milchdrüsengewebe bezw. im Drüsenepithel eine allmähliche Gewöhnung der Drüsenzellen an die Abwehr der ja meist harmlosen, das Euter bewohnenden Bakterien erfolgen. Darin dürfte die Hauptursache für die später auftretende Bakterizidie der frischen Rohmilch gelegen sein.

6. Die Bakterizidie als Produkt verschiedener Faktoren.

Der Gedanke an rein osmotische Vorgänge bei der Bakterizidie der Milch muß also fallen gelassen werden, ohne daß damit die Mitwirkung derartiger Prozesse ausgeschlossen erscheint. Es scheint, daß in den ersten Minuten, bevor die im Milchserum gelösten Stoffe noch ihre Nährwirkung entfalten können, dieselben nur osmotisch wirken werden, daß aber dann bald zwei antagonistisch wirksame Momente das weitere Schicksal der in der Milch vorhandenen Bakterien bestimmen: einerseits die aufgenommenen Nährstoffe, welche ihnen bei Ueberwindung der osmotischen Störung zu Hilfe kommen, und andererseits — neben den von Fischer erwähnten Schädigungen (Temperaturänderung, erhöhte Alkaleszenz oder Säure) — die nach den heutigen Vorstellungen von der natürlichen Immunität erst durch die Vereinigung mit Ambozeptoren lytisch wirksamen Alexine (Komplemente), welche sie bei diesem Anpassungsversuch hindern. Erst diese die Anpassung erschwerenden Umstände lassen es begreiflich erscheinen, daß die bakterizide Phase unter Umständen bis zu 12, 24 Stunden und länger dauert. Daß die Dauer der bakteriziden Phase nicht nur von der Art der angegriffenen Bakterien, sondern auch von der Tierspecies, dem Individuum etc. abhängig ist, ist nicht nur die natürliche Folge aus dem vorhin Gesagten, sondern auch eine oft gemachte Erfahrung.

v. Lingelsheim hat auch die morphologischen Veränderungen von

Choleravibrionen in Rattenserum untersucht (I. p. 154). Er beobachtete von vornherein in der Wärme und es zeigte sich auch bald das, was Fischer beschrieben hat. An einem oder beiden Polen der Vibrionen traten stark lichtbrechende Körperchen auf, die sich deutlich von dem übrigen Protoplasma abhoben und mit der Zeit an immer zahlreicheren Individuen sichtbar wurden. Hierbei blieb zunächst die Kontur der Bakterien unverändert. Weiterhin vergrößerten sich die lichtbrechenden Körperchen, zugleich kam es zu einer Ablösung der Körperchen, die sich dann frei in der Flüssigkeit bewegten oder mit anderen in kurzen kettenartigen Gebilden oder Häufchen zusammen lagerten. Der erste Akt dieses Destruktionsprozesses, die Bildung der stark lichtbrechenden Körperchen bei sonst erhaltener Konfiguration des Bacillus, hat, wie schon bemerkt, große Aehnlichkeit mit den in Salzlösungen zu beobachtenden Wirkungen osmotischer Drucksteigerung. Je weiter jedoch der Prozeß fortschreitet, um so mehr verliert sich diese Aehnlichkeit und das schließliche Endresultat erschien kaum vergleichbar allem, was ich durch die Anwendung der verschiedensten Salzkonzentrationen auf Cholerabacillen erzielen konnte. Daß es sich aber hier im wesentlichen nicht um rein osmotische Vorgänge handelte, geht daraus hervor, daß sich der körnige Zerfall durch Zusatz von Salz zum Serum merklich hemmen ließ.

Ferner (I. p. 155): Gleichfalls gut verfolgbar ist die Auflösung der Coli-Bacillen im Taubenserum, die Kraus und Clairmont genauer beschrieben haben. Auch dieser Vorgang zeigt nur anfangs Aehnlichkeit mit osmotischen Störungen und wird gleichfalls durch geeigneten Salzzusatz (der nach v. Lingelsheim etwas höher sein muß) deutlich gehemmt.

Diese Beobachtungen sprechen also ebenfalls für die oben angeführte Ansicht, daß die Bakterizidie der Milch nicht auf eine einheitliche Ursache zurückgeführt werden kann.

Bevor wir auf den vermutlichen Ursprung der bakteriziden Stoffe in der Milch noch näher eingehen, mögen noch einige Worte folgen.

7. Ueber die Benennung der besprochenen Formen von B. coli und andere seltene Anpassungsformen.

Da die Bildung atypischer Coli-Formen auf 4-proz. Milchzuckernährböden nur eine vorübergehende Erscheinung ist, so kann wohl über die Lebensfähigkeit dieser Formen kein Zweifel bestehen. Die Formen sind nur im Zustande der Anpassung an den höheren Zuckergehalt, sind nur zuckerkrank — wenn man mit Grassberger sprechen will — nicht aber Involutionsformen.

Die letztere Bezeichnung ist meiner Meinung nach nur für jene Formen am Platze, deren andauernde Lebensfähigkeit nicht nachweisbar ist.

Es fehlt übrigens nicht an anderen Beobachtungen, wonach sogenannte Involutionsformen auch zur Zeit der üppigsten Entwickelung auftreten können. In dem oben gedeuteten Sinne wäre es besser, derartige lebensfähige Formen, ebenso wie die erwähnten Coli-Formen, als Anpassungsformen zu bezeichnen.

Bezüglich des B. coli commune sei z. B. an die von Winkler (I. p. 14) beobachteten interessanten Formen erinnert, die bei dem Wachstum in gewissen Nährböden (sauren Nährflüssigkeiten) auftreten. Diese

oft außerordentlich großen und differenzierten Formen beweisen, daß auch bei niederen Organismen die Entwickelungsmöglichkeiten keineswegs so beschränkte sind als für gewöhnlich angenommen wird. Bezüglich höherer Pilze gibt z. B. Benecke an, daß die Pilze wie alle anderen Wesen die verschiedensten Waffen im Kampfe ums Dasein anwenden. Während die einen Pilze, wie dies neuerdings Falck für Coprinus anschaulich schildert, durch weites Auswachsen ihren Nährboden ganz in Beschlag nehmen, ehe sie zu dessen Ausnützung und zur Vollendung ihres Entwickelungsganges schreiten, helfen sich die anderen durch chemische Einwirkungen.

Ich habe im Laufe meiner Untersuchungen Andeutungen dafür erhalten, daß auch bei B. coli commune — vielleicht äußerst selten — bei dem Versuche sich der Milch anzupassen, Abweichungen von dem normalen Entwickelungsgange vorkommen können. Es war nämlich auf einer Platte aus steriler Milch, die mit einer Reinkultur eines Coli-Stammes geimpft worden war, uuter den Kolonieen auch einmal eine solche aufgetreten, die nur Kokken enthielt. Andere als coliartige Kolonieen waren auf den Platten nicht zu sehen. Die Kokken zeigten auf den verschiedenen Nährböden nur geringe Abweichungen vom Coli-Typus und haben auch nach fast 2-jähriger Abimpfung ihre Form nicht verändert. Es sprechen verschiedene Umstände dafür, daß diese Form als Mutation bezeichnet werden könnte. Mutationen sind (nach Küster, p. 166) bei B. coli commune z. B. von Barber und Massini beobachtet worden. Ich behalte mir jedoch noch eine Nachprüfung der Ausgangsform vor.

Da die bei B. coli wahrgenommenen Polkörperchen auch als Pseudosporen angesehen worden sind, würde der Versuch, sporenähnliche Gebilde zu erzeugen, auch als eine Abweichung von dem normalen nicht sporenbildenden Entwickelungsgange anzusehen sein.

Soviel kann aber schon jetzt auf Grund der vorliegenden Versuche gesagt werden, daß in frischer Rohmilch teils günstige, teils ungünstige Einflüsse auf die Bakterien ausgeübt werden und soviel gegenwärtig über die Entstehung von Mutationen bekannt ist, scheinen diese nach de Vries neben inneren Ursachen hauptsächlich durch eine Kombination extrem günstiger mit extrem ungünstigen Bedingungen zustande zu kommen.

8. Ueber die Eigenschaften und den Ursprung der bakteriziden Stoffe in der Milch.

Wie schon früher hervorgehoben wurde, ist es nicht möglich, die bakterizide Wirkung der frischen Rohmilch auf eine einheitliche Ursache, z. B. den hohen Milchzuckergehalt, zurückzuführen, sondern es müssen dabei auch gewisse alexinartige Milchbestandteile, sogenannte Komplemente, die durch ihre Verbindung mit Ambozeptoren wirksam werden, berücksichtigt werden, über deren Eigenschaften wir nun noch näheres zu erfahren suchen wollen.

Von diesen Alexinen gibt unter den neueren Arbeiten z. B. Kolle (p. 362) an, daß sie durch $^1/_2$-stündiges Erwärmen der Milch auf 60° C geschwächt, durch Kochen vernichtet, durch 48-stündige Aufbewahrung im Eisschrank aber, ferner durch Behandlung mit Ptyalin oder mit Salzsäure und Pepsin bei nachfolgender Neutralisierung kaum beeinträchtigt werden.

Koning behauptet, „daß die Milch toxische Stoffe wahrscheinlich hämatogenen Ursprungs besitzt, daß diese in sauberer Milch länger wirksam bleiben und daß sie bei 37 ° C stärker wirken als bei niedrigerer Temperatur und ihre Wirksamkeit durch Kochen oder längeres Aufbewahren verlieren. Nicht alle Bakterien werden in gleicher Weise geschädigt. Individuelle Eigenschaften der Kuh stehen in Beziehung zu dem Gehalt der Milch an Toxinen. Nach Hunziker scheint der Grund der Bakterizidie nicht nur je nach dem Individuum, sondern selbst in den verschiedenen Gemelken verschieden zu sein".

Es wäre verfehlt, in diesen Fällen zur Stütze der Theorie der osmotisch-nutritiven Störungen etwa große Schwankungen im Salz- und Milchzuckergehalt der verschiedenen Milchproben anzunehmen. Wohl aber ist bekannt (nach Günther, p. 396), daß der in frischem Serum normaler Tiere vorhandene Alexin-(Komplement-)gehalt je nach der Tierart ein verschiedener ist; er zeigt auch individuelle Verschiedenheiten, ferner bei dem einzelnen Individuum zeitliche Schwankungen.

Was den Ursprung der alexinartigen Stoffe des Blutes anbelangt, so sind diese nach Buchner (zitiert bei Günther, p. 333) als Produkte gewisser zelliger Elemente des Organismus, und zwar speziell der Leukocyten aufzufassen, wenn die letzteren nach neueren Forschungen auch wahrscheinlich nicht die einzige Quelle der bakteriziden Körper des Serums darstellen. Sehr leukocytenreiche Exsudate, die man sich nach Buchner dadurch verschafft, daß man Aleuronatbrei Kaninchen (intrapleural) oder Meerschweinchen (intraperitoneal) einspritzt, nehmen durch öfteres Gefrierenlassen und Wiederauftauen an ihrer bakteriziden Fähigkeit sehr erheblich zu: die Leukocyten werden dabei geschädigt, zerfallen, die in ihnen enthaltenen bakteriziden Stoffe („Alexine") werden frei.

Nach Metschnikoff wirkt das Blut nur keimtötend, wenn eine Anzahl Leukocyten in ihm abgestorben und ausgelaugt ist. Daß auch das Serum keimtötend wirke, sei natürlich; denn bei der Gerinnung des Blutes und der Entstehung des Serums gingen viele Leukocyten zugrunde.

Auch Fischer zitiert diese Ansicht (II. p. 344), ohne ihr jedoch irgendwelche Bedeutung für die Bakterizidie des Blutserums beizulegen: „Um der Phagocytentheorie entgegen zu kommen, nimmt man an, daß die Leukocyten jene gelösten Stoffe, Alexin und Lysin, erzeugen, die, aus den weißen Blutkörperchen ins Serum übertretend, nun auch in diesem wirken, ihm bakterizide und bakteriolytische Kräfte verleihen."

Allerdings erhält das Serum erst durch die Verbindung von Immunkörper (Ambozeptor) und Komplement aktive Eigenschaften und in diesem Sinne würden die in der Milch wahrscheinlich aus ihren zelligen Elementen im Laktoserum entstehenden Stofte als sogenannte Cytolysine resp. Bakteriolysine zu bezeichnen sein.

Das Vorhandensein von bakteriziden Stoffen in Rohmilch wäre also hauptsächlich eine Erscheinung der natürlichen Immunität des Organismus. Es ist leicht einzusehen, daß diese Stoffe nicht nur so lange wirken, als die Milch im Euter sich befindet, sondern daß ihre Wirkung nach dem Austritt der (gewöhnlichen, besonders aber der an zelligen Elementen reichen) Milch aus dem Euter bei nicht zu großer Keimzahl und bei niedriger Temperatur auch noch einige Zeit anhält. Es darf daher nicht wunder nehmen, daß die Frage nach der Bakterizidie der Milch

bisher so verschiedene Ansichten gezeitigt hat, nachdem ihre Abhängigkeit von allen Launen der natürlichen Immunität erkannt worden ist.

Das Vorkommen von Leukocyten in der Milch ist schon lange bekannt, ebenso wird schon lange das Vorhandensein von Enzymen in der Milch auf die Gegenwart der Leukocyten zurückgeführt. Seit den Arbeiten von Rullmann und Trommsdorff ist dem Vorkommen von Leukocyten in der Milch größere Aufmerksamkeit zugewendet worden. Schon vor diesen beiden Forschern hatte Bergey darauf aufmerksam gemacht, daß zwischen der Zahl der Leukocyten und der der Mastitis-Streptokokken ein gewisser Zusammenhang besteht.

Nach ihrem Autoreferat (p. 344) glauben die Verfasser „bezüglich der bakteriziden Kraft frischer Milch aus ihren Versuchen schließen zu dürfen, daß die bakterizide Kraft von Milchen aus Eutern mit mastitischen Prozessen eine erhöhte ist und daß eine Abhängigkeit der Bakterizidie der Milch von der Menge der in ihr enthaltenen Leukocyten besteht".

Ueber die Zahl der in Milch vorkommenden Leukocyten geben die beiden Forscher an, daß meist 2—4 Volumina Leukocyten auf 10,000 Teile Milch entfallen, daß aber dieser Gehalt bei manchen Kühen auch auf 10, ja auf 100 Teile hinauf gehen kann. Nach Russell und Hoffmann sollen auch bei gesunden Kühen 50,000—500,000, ja bis zu 1 Million pro 1 ccm Milch vorkommen können.

Nun ist aber durch Winklers (II.) eingehende Untersuchungen in neuester Zeit der Beweis erbracht worden, daß die Leukocyten keineswegs in so großer Menge in der Kuhmilch vorkommen, sondern daß von den als Leukocyten angesehenen Zellen der größte Teil als abgestoßene Epithelzellen bezeichnet werden muß.

Für die Frage der Bakterizidie der Milch hat diese Unterscheidung jedoch weniger Bedeutung, da nach Weigmann auch die Epithelzellen imstande sind, Bakterien abzutöten und aufzulösen, und „daß auch der Milch als einem in gewissem Sinne lebenden Sekret die Fähigkeit, Bakterien abzutöten, ebenso wie dem Blute und anderen tierischen Säften, zugeschrieben wird".

Es soll hier nicht auf die viel umstrittene Frage eingegangen werden, ob die natürliche Immunität nur auf den Eigenschaften der Leukocyten oder daneben auch auf dem Vorhandensein von im Blute gelösten Substanzen beruht.

Eine Erörterung dieser Frage ist hier deshalb überflüssig, weil ja nach den neuesten Ansichten über die Milchbildung (Winkler, II. p. 22) bei diesem Prozeß immer ein kleiner Teil der Drüsenepithelzellen des Euters fortwährend in der Milch aufgelöst wird, also eine Entscheidung der Frage, ob die Bakterizidie der Milch nur auf ihrem Gehalt an zelligen Elementen oder nur auf bakteriziden Eigenschaften des Laktoserums beruht, ganz unmöglich ist.

„Es ist (II. p. 24) sehr wenig, wenn man unter einem Deckglas, das $1/_{200}$ ccm Milch bedeckt, 3 Epithelzellen vorfindet. Es kommen dann auf 1 ccm 600 und auf die Tagesproduktion von 12 Litern 7,2 Millionen."

Wenn man nun annimmt, daß jede von diesen 600 abgestoßenen Epithelzellen noch genügend lebenskräftig ist, um ein Bakterium abzutöten, so ist damit für die Erklärung der Bakterizidie sehr viel getan. Auch die Abtötung zahlreicherer Keime wäre erklärbar, wenn man mit Russell und Hoffmann das Vorkommen von 50000—500000 resp. 1 Million Leukocyten

(richtiger wäre Epithelzellen) pro 1 ccm Milch bei gesunden Kühen annehmen würde.

Bekanntlich nimmt bei einem raschen und wenig schonenden Melken die Zahl der abgestoßenen Epithelzellen beträchtlich zu und es ist daher verständlich, wenn bei den von Harrison auf der College Farm zu Guelph ausgeführten Versuchen der Bakteriengehalt der letzten Milch je nach der Art des Melkens verschieden war: wurde rasch gemolken, so konnten nur wenige, in einigen Fällen gar keine Bakterien gefunden werden, wurde dagegen langsam und mit Unterbrechung gemolken, so war die Zahl der Keime eine größere und stieg in einem Falle bis zu 57000.

Wenn durch die früheren Untersuchungen ein Zusammenhang der bakteriziden Kraft der Milch mit ihrem Gehalt an zelligen Elementen wahrscheinlich gemacht wurde, so müßte das Kolostrum, welches bedeutend mehr zellige Elemente und viel Plasma der aufgelösten Zellen (die sogenannten Kolostrumkörperchen) enthält, noch eine stärkere bakterizide Wirkung aufweisen. In der Tat ist nun auch durch Koning (p. 17) festgestellt worden, daß das Kolostrum die bakteriziden Eigenschaften viel deutlicher zeigt als die normale Kuhmilch.

Es scheint also, daß die osmotischen Eigenschaften des Laktoserums zur Erklärung der Bakterizidie der Kuhmilch nur sehr wenig in Betracht kommen, sondern daß diese hauptsächlich der Gegenwart zelliger Elemente (Epithelzellen) und der von ihnen abgesonderten, Bakterien vernichtenden Stoffe zuzuschreiben ist.

Mir erscheint daher die von Weigmann gewählte Bezeichnung der Milch „als gewissermaßen lebendes Sekret“ für frische Rohmilch sehr glücklich gewählt.

Den bisherigen Untersuchungen über die Abnahme der Keimzahl in frischer Rohmilch könnte vielleicht der Einwand entgegengehalten werden, daß die unter streng aseptischen Maßregeln gewonnene Milch fast nie ganz keimfrei ist und daß daher die in solche Milch eingeimpften Reinkulturen außer von den bakteriziden Stoffen der Milch auch von anderen Bakterien und ihren Stoffwechselprodukten beeinflußt werden könnten.

Um diesem Einwand zu begegnen, hat Much (I. p. 384) das Verhalten von Typhusbacillen, Staphylococcus aureus und Coli-Bacillen in sogenannter Perhydrasemilch studiert, also in einer Milch, die durch Behandlung mit Wasserstoffsuperoxyd keimfrei gemacht und in der das Wasserstoffsuperoxyd durch Hinzufügung einer Katalase (Hepin) restlos entfernt wurde. (Allerdings muß das hierzu verwendete Hepin nach meiner Erfahrung auch vollkommen keimfrei sein.) Durch diese Versuche wurde der Nachweis von Bakteriozidinen in frischer Kuhmilch gegenüber den genannten Bakterien einwandfrei erbracht und gleichzeitig konstatiert, daß man durch das Perhydraseverfahren die Bakteriozidine durch 24 Stunden in der Milch erhalten kann, was bei gewöhnlicher Kuhmilch nicht möglich ist.

9. Beobachtungen an anderen Milchbakterien.

Daß die coli- und aërogenesartigen Kolonieen aus frischer Rohmilch deutliche Spuren des stattgehabten Kampfes gegen die Bakterizidie der Milch morphologisch erkennen lassen, wurde bereits früher klargelegt. Es ist nun vorauszusehen, daß auch von Vertretern der anderen Bakteriengruppen während der bakteriziden Phase viele geschwächte und im

Absterben begriffene Individuen mit auf die Nährböden übertragen werden und daß daher auch bei diesen sogenannte Anpassungsformen auftreten müssen.

In der Tat konnte ich einmal auf den Platten aus einer 1 Stunde nach dem Melken untersuchten Milch atypische Milchsäurestreptokokken (Strept. Güntheri) auftreten sehen. Die entsprechend verdünnte Milch wurde sowohl auf 4-proz. Milchzuckerkreide- als auch auf 2-proz. Milchzuckergelatine in gleicher Menge ausgesät. Durch ein besonderes Verfahren war dafür gesorgt worden, daß sich nur Oberflächenkolonieen entwickelten[1]). Trotzdem war das Bild der Kolonieen auf beiden Platten durchaus verschieden. Die auf der Milchzuckerkreideplatte in größerer Zahl aufgetretenen Kolonieen waren 3—4 mm im Durchmesser, gelblichweiß, dicht, mit gekerbtem Rand und bildeten erst nach einigen Tagen einen Säurehof. Auf der 2-proz. Milchzuckergelatine war der Durchmesser der in überwiegender Anzahl aufgetretenen Kolonieen höchstens 1 mm, im übrigen glichen sie den ersteren. Die mikroskopische Untersuchung zeigte nun, daß sich auf beiden Platten zu einem hohen Prozentsatz Milchsäurestreptokokken entwickelt hatten, welche jedoch nur auf der 2-proz. Milchzuckergelatine die normale Form (1,0 μ lang, 0,7 μ breit) angenommen hatten, während sie auf der 4-proz. Milchzuckerkreidegelatine bedeutend größere aufgetriebene Formen bildeten. Von derselben Milch wurden bei Zimmertemperatur in Intervallen von wenigen Stunden Aussaaten bis zur Gerinnung gemacht und es zeigte sich, daß die Milchsäurestreptokokken auch auf den später angelegten Platten stets der überwiegende Typus blieben und — da sie auf den letzten Platten fast in Reinkultur vorhanden waren — auch die Milch zur Gerinnung gebracht hatten. In morphologischer Beziehung ist aber hervorzuheben, daß die anfangs erwähnten aufgetriebenen Formen schon nach wenigen Stunden in die normalen übergegangen waren. Dementsprechend waren auch die auf den ersten Milchzuckerkreideplatten aufgetretenen atypischen Formen von Milchsäurebakterienkolonieen schon auf den nach 13 Stunden später angelegten Milchzuckerkreideplatten nicht mehr zu sehen, sondern nur mehr die normalen, 1—2 mm großen Kolonieen.

Bezüglich anderer Milchsäurebakterien verschiedenster Herkunft sind von Henneberg unter dem Einfluß höheren Zuckergehaltes auffallende „hypertrophische“ und andere Formen beobachtet worden, deren Ent-

1) Die Notwendigkeit, ein solches Verfahren zu besitzen, ergab sich aus der Unmöglichkeit, Tiefenkolonieen von B. coli und B. aërogenes einerseits und von Strept. Güntheri andererseits zu unterscheiden. P. Lindner (p. 203) streicht zum Zweck der Gewinnung von Oberflächenkolonieen verschieden keimhaltige Verdünnungen mittels eines sterilen Tuschepinsels einfach auf die erstarrte Gelatine aus. Ich habe nun dieses Verfahren (die sogenannte Pinselstrichkultur) dahin modifiziert, daß ich zum Aufstreichen des Verdünnungsmaterials eine (in $^1/_{10}$ ccm geteilte) Glaspipette benutzte, auf deren Spitze ein kleiner „Hohlpinsel“ aufgeschoben wurde (Pinselhaare, die mit nicht rostendem Draht um einen 2 cm langen Federkiel gebunden waren). Die mit dem Hohlpinsel versehene Pipette (die ich Pinselpipette nennen möchte) konnte nach dem Gebrauch in kochendem Wasser sterilisiert und in kaltem sterilen Wasser (in einer Eprouvette) abgekühlt werden. Als Verdünnungsmaterial benutzte ich immer 100 ccm physiologische Kochsalzlösung und richtete die Verdünnung so ein, daß immer 0,5 oder 1,0 ccm zum Aufstreichen auf die erstarrte Gelatine benutzt wurden. Nach einiger Uebung macht die Führung dieser Pinselpipette keine Schwierigkeiten und die im Vergleich zu dem gewöhnlichen Plattenverfahren etwas größere Mühe wird reichlich entlohnt durch die Möglichkeit, dieses Verfahren auch zu Keimzahlbestimmungen zu benutzen und die Bakterien der Coli-Gruppe scharf von den typischen Milchsäurebakterien zu unterscheiden, da die ersteren stets 5—10 mm große, ausgebreitete, die letzteren meist nur 1—2 mm im Durchmesser messende Oberflächenkolonieen bilden.

stehung wohl zum größten Teile auf Störungen des osmotischen Drucks der Bakterienzellen zurückzuführen ist.

Es sei hier auch bemerkt, daß auf den 4-proz. Milchzuckerkreidenährböden die Bakterien meist etwas später herauskommen und oft auch in geringerer Anzahl als auf den entsprechenden 2-proz. Milchzuckerplatten. Die früher erwähnte Bedeutung des höheren Milchzuckergehaltes für die Anpassungsfähigkeit der Milchbakterien erklärt dies ohne weiteres.

Bezüglich der Vertreter anderer Gruppen in Milch häufig vorkommender Bakterien mögen noch die regelmäßig das Euter bewohnenden Mikrokokken erwähnt werden. Bei den Versuchen, möglichst keimfreie Rohmilch auf mechanischem Wege zu gewinnen, ließ ich nach der eingangs beschriebenen aspetischen Reinigung des Euters ungefähr 100 ccm Milch in einen kleinen sterilen Erlenmeyer-Kolben melken. Eine halbe Stunde nach der Gewinnung wurde eine Aussaat gemacht, hierauf wurde die Milch unter Verwendung des (vorher sterilisierten) Bernsteinschen Milchschmutzprüfers durch Watte filtriert und sofort nach der Filtration ebenfalls eine Aussaat gemacht. Die Zählung der Platten geschah zuerst nach 4, dann nach 10 Tagen. Die erhaltenen Keimzahlen waren:

Keimzahl	nach 4 Tagen	nach 10 Tagen
vor der Filtration	175	1368
nach „ „	156	922

Auch bei gewöhnlicher frischer Rohmilch wurde die Keimzahl der zuerst angelegten Platten erst nach längerer Zeit konstant.

Dazu ist zu bemerken, daß sich die nach 3—4 Tagen erreichte Keimzahl aus alter Milch nicht mehr ändert.

Es geht also aus dieser Tabelle hervor, daß die aus frischer Rohmilch isolierten Bakterien längere Zeit zur Anpassung an den Nährboden brauchen als die aus älterer Milch gewonnenen, was wohl auf ihre während der bakteriziden Phase erlittene Schwächung zurückzuführen ist. Es wäre wünschenswert, wenn alle über die Keimzahl aseptisch gewonnener Milch gemachten Veröffentlichungen mit der Angabe der Zähltage versehen wären.

Am spätesten kommen gewöhnlich die weißen oder gelben, nicht oder nur schwach säurebildenden Mikrokokken, die typischen Euterbewohner, heraus, denen der Wechsel des Medium besonders schwer anzukommen scheint. Morphologisch sind sie auch dadurch auffallend, daß in einem und demselben Präparat verschieden große Kokken auftreten. Die größeren darunter sind jedenfalls abnormale, aufgetriebene Formen.

Bei einer Wiederholung des vorigen Versuches verwendete ich zur Filtration anstatt Watte die bekannten mit präpariertem Asbest gefüllten Filterröhrchen, wie sie bei der Zuckerbestimmung mit Fehlingscher Lösung zur Filtration des ausgeschiedenen Kupferoxyduls verwendet werden. Während der Filtration wurde das vorher sterilisierte Filterröhrchen mit einem sterilen Wattepfropf verschlossen. Die Milch wurde in einem sterilen, mit doppelt durchbohrtem Gummistöpsel versehenen Kolben aufgefangen, aus dem die Luft mittels einer kräftig wirkenden Wasserstrahlpumpe ausgesaugt wurde. Die Zählung der Platten geschah aber erst nach 10 Tagen und ergab, daß vor der Filtration durch Asbest 600 Keime,

unmittelbar nach der Filtration aber bloß 15 Keime im Kubikzentimeter Milch gezählt werden konnten. Es war nur ein Typus vertreten, die schon öfter genannten weißen Euterkokken. (Die Filtration geschah ebenso wie beim vorigen Versuch ½ Stunde nach der Gewinnung der Milch.)

Auch nach 20 Tagen erlitten die erhaltenen Keimzahlen keine weitere Veränderung.

Bei Tuberkelbacillen, deren Verhalten in frischer Rohmilch von großer praktischer Bedeutung ist, stellte Much (II. p. 95) folgende Versuche an: „Die Milch einer Kuh (Kuh 109, die Kuh ist mehrfach zu Tuberkuloseimmunisierungszwecken behandelt worden) verwandelte ich am 24. Oktober in Perhydrasemilch. Die Ueberführung in Perhydrasemilch hatte den Zweck, die Milch vollkommen keimfrei zu machen, und sie doch ihrer genuinen Eigenschaften nicht zu berauben. In je 5 ccm dieser Perhydrasemilch säte ich nun von einer 14-tägigen Agarkultur eines Rindertuberkelbacillenstammes je 0,005 g Tuberkelbacillen und ließ sie dann bei 37° C stehen.

Gefärbte Ausstrichpräparate der Tuberkelbacillen-Perhydrasemilch 24 Stunden nach Einsaat der Tuberkelbacillen ergaben folgendes Bild:

Nach Ziehl: Wenig Stäbchen. Man sieht, wie die Stäbchen in einzelne Körnchen zerfallen, die aber noch in Stäbchenform angeordnet bleiben. Diese liegen häufig innerhalb oder um in der Milch enthaltene leukocytäre Elemente.

Nach Gram: Mäßig viel Stäbchen, viel Körnchen, teils in Stäbchenform, teils einzeln liegend. Das Phänomen der Aufnahme resp. Anziehung durch die leukocytären Elemente ist sehr schön ausgesprochen.“

Schlußbemerkungen.

Ohne eine vollständige Zusammenfassung über die Ergebnisse dieser Arbeit geben zu wollen, möge hier doch das praktisch Wichtigste hervorgehoben werden.

Bezüglich der Erklärung der bakteriziden Wirkung der Milch von neuen Gesichtspunkten aus sei besonders auf den 5., 6. und 8. Abschnitt dieser Arbeit verwiesen.

Auf die dort angeführten Gründe ist auch das Auftreten gewisser abnormaler Stäbchen vom Typus des B. coli commune und B. lactis aërogenes in den Plattenkolonieen aus frischer Rohmilch zurückzuführen. Je zahlreicher diese als Erreger des sogenannten Stallgeruches der Milch und häufiger Butter- und Käsefehler schon lange bekannten Bakterien in Milch auftreten, um so mehr beeinträchtigen sie den angenehmen natürlichen Geruch und Geschmack der Milch. Die Unterscheidung dieser Mikroorganismen von den gewöhnlichen Milchsäurebakterien ist daher von großer Wichtigkeit. Trotzdem war es bisher nicht möglich, Tiefenkolonieen dieser beiden Typen auf den gewöhnlichen Platten ohne mikroskopische Untersuchung zu unterscheiden.

Durch Einführung einer besonderen Methode (Ausstrich mit der „Pinselpipette“), die nur Oberflächenkolonieen aus einer abmeßbaren Menge Aussaatmaterial lieferte, gelang es, diese Schwierigkeit zu beseitigen.

Es hat sich ferner ergeben, daß Keimzahlbestimmungen von Platten aus aseptisch gewonnener frischer Rohmilch erst nach 10 Tagen gemacht werden dürfen.

Weiterhin wurde gezeigt, wie die in den Oberflächenkolonieen des B. coli commune und B. lactis aërogenes aufgetretenen abnormalen Formen durch Verwendung geeigneter Nährböden (zuckerfreien Agars) wieder in die normalen übergeführt werden konnten.

Durch die Kenntnis des Zusammenhanges zwischen den bakteriziden Eigenschaften der frischen Rohmilch und den während der bakteriziden Phase auftretenden Anpassungsformen der Milchbakterien wurde die Diagnose der letzteren wesentlich erleichtert.

Zum Schluß ist es mir eine angenehme Pflicht, meinem Lehrer und Institutsvorstand, Herrn Prof. Dr. W. Winkler, für sein Interesse an meiner Arbeit und seine wertvollen Ratschläge wärmstens zu danken.

Literatur.

Adam, Abbot, Maude und Nicholson, On the diplococcoid form of the colon bacillus. (Journ. of exper. Med. Vol. IV. 1899. No. 3—4. Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXII. p. 72.)

Basenau, Fr., Ueber die Ausscheidungen von Bakterien durch die tätige Milchdrüse und über die sogenannten bakteriziden Eigenschaften der Milch. (Archiv f. Hyg. Bd. XXIII. 1895. p. 44.)

Baumgarten, I. Bakteriol. Jahresbericht. 1899. p. 787 ff.

— II. Berl. klin. Wochenschr. 1900. No. 7—9.

Behrens, J., Beeinflussung der Zuwachsbewegung und der Gestaltung durch physikalische Kräfte. (In Lafar, Handb. der techn. Mykologie. Bd. I. 3. Jena 1905. p. 442.)

Benecke, W., Allgemeine Ernährungsphysiologie. (In Lafar, Handb. d. techn. Mykologie. Bd. I. 3. Jena 1905. p. 331.)

Bergey, Univ. of Pennsylvania. Medical Bull. 1904.

Beijerinck, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1897.

Buchner, Untersuchungen über die bakterienfeindlichen Wirkungen des Blutserums. (Archiv f. Hyg. Bd. X. 1890.)

Burri, R., Unterdrückung der Bakterienflora der Milch durch Kühlen, Lüften und chemische Mittel. (In Lafar, Handb. der techn. Mykologie. Bd. II. 2. Jena 1906. p. 253.)

Czaplicki, R., Die Homogenisierung der Milch als Nährboden für Bakterien. (Milchwirtsch. Centralbl. Jahrg. I. 1905. p. 450.)

Ehrlich, 7. int. Kongr. f. Hyg. und Demogr. London 1891. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. X. p. 763.)

Finkh, Aufhebung der sogenannten bakteriziden Wirkung des Blutserums durch Zusatz von Nährstoffen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXVII. p. 694.)

Fischer, A., I. Die Empfindlichkeit der Bakterienzelle und das bakterizide Serum. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXV. 1900. p. 1 ff.)

— II. Vorlesungen über Bakterien. 2. Aufl. Jena 1903.

Grassberger, R., Ueber Anpassung und Vererbung bei Bakterien. (Archiv f. Hyg. Bd. LIII.)

Günther, C., Einführung in das Studium der Bakteriologie. 6. Aufl. Leipzig 1906.

Harrison, F. C., Revue générale du lait, 1902—03. Bd. II. p. 457, 481, 510 und 538 und 22. Ann. Rep. Ontario Agr. College 1896.

Heim, L., Lehrbuch der Bakteriologie. 3. Aufl. Stuttgart 1906.

Heinze, B., Ueber die Bildung und Wiederverarbeitung von Glykogen durch niedere pflanzliche Organismen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. p. 53.)

Henneberg, W., Zur Kenntnis der Milchsäurebakterien. (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. 1903. No. 22—31.)

Hunziker, O. F., Cornell Univ. Agr. Exp. Stat. Bull. No. 197. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1902. Bd. IX. p. 874.)

Kirchner, W., Handb. d. Milchwirtschaft. 5. Aufl. Berlin 1907.

Klebs, G., Jahrb. wiss. Bot. Bd. XXXV. 1900. p. 80.

Kolle, W., Milchhygienische Untersuchungen. In Gemeinschaft mit Friedel, Kutscher, Meinicke und Sarazeni. (Klin. Jahrb. Bd. XIII. p. 319. Ref. in Kochs Jahresber. Bd. XV. p. 362.)

Kolle und Wassermann, Handb. d. pathogenen Mikroorganismen. Bd. II. Jena 1903.

Koning, C. J., Biologische und biochemische Studien über Milch. Heft 1. Leipzig (M. Heinsius) 1906.

Kuhn, zit. bei Lehmann und Neumann. p. 388.
Küster, E., Anleitung zur Kultur der Mikroorganismen. Leipzig und Berlin (B. G. Teubner) 1907.
Lehmann und Neumann, Bakteriologie. 4. Aufl. 2. Teil. München 1907.
Lindner, P., Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben. 4. Aufl. Berlin 1905.
v. Lingelsheim, I. Ueber die Bedeutung der Salze für die bakterizide Wirkung des Serums. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXXVII. 1901.
— II. Ausfällung bakterizider und globulizider Blutfermente durch Pflanzenschleim. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XLII. p. 308.)
Löhnis, F., Versuch einer Gruppierung der Milchsäurebakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVIII. 1907.)
Manfredi, Ref. in Baumgartens Jahresber. 1887. p. 361.
Matzuschita, T., Die Einwirkung des Kochsalzgehaltes des Nährbodens auf die Wuchsformen der Mikroorganismen. (Zeitschr. f. Hygiene. 1900.)
Metschnikoff, zit. bei Lehmann und Neumann. p. 101; Näheres über die Lit. bei Fischer. II. p. 345. Anm. 3.
Much, H., I. Ueber Bakteriozidine in Perhydrasemilch. (Münchn. med. Wochenschr. Jahrgang LV. 1908. No. 8. p. 384.)
— II. Ueber die granuläre, nach Ziehl nicht färbbare Form des Tuberkulosevirus. (Beiträge zur Klinik der Tuberkulose. Bd. VIII. 1907. Heft 1. p. 85.)
Pfaundler, M., Morphologie und Biologie des Bacterium coli commune. (In Kolle und Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Bd. II. Jena 1903. p. 337.)
Rullmann und Trommsdorff, Milchhygienische Untersuchungen. (Arch. f. Hyg. Bd. LIX. 1906. p. 224—262. Autoref. in Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVIII. 1907. p. 341.)
Russel und Hoffmann, zit. bei W. Winkler. II. p. 59.
Serkowski, Milch und Bakterien. Warschau 1900.
Smith, Ueber die Bedeutung des Zuckers in Kulturmedien für Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XVIII. 1895. p. 3.)
Söldner, Landw. Vers.-Stat. Bd. XXXI. p. 55.
de Vries, Eine Methode zur Analyse der Turgorkraft. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XIV.)
Walz, Baumgartens Bakteriol. Jahresber. 1899. p. 34 ff.
Wassermann und Citron, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. L.
Weigmann, H., Bakterizidie der Milch. (In Lafars Handb. der techn. Mykologie. Jena 1905. Bd. II. 1. p. 7.)
Winkler, W., I. Untersuchungen über das Wesen der Bakterien und deren Einordnung im Pilzsystem. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. V. 1899. p. 1.)
— II. Die Milchbildung und die mikroskopische Milchprüfung. (Zeitschr. f. das landw. Versuchswesen in Oesterreich. 1908.)
Wolff, A., Zur Kenntnis der Veränderungen der Bakterienflora der frischen Milch während des sogenannten Inkubationsstadiums. Inaug.-Diss. Zürich 1908.

The milking machine as a factor in milk hygiene.

[From the Bacteriological Laboratories of the University of Wisconsin, Madison, Wis.]

By **E. G. Hastings** and **C. Hoffmann.**

With 1 figur.

Many types of milking machines have been tried under practical conditions and have not been a success. In practically all cases the cause of failure has been the influence of the machine upon the animal, the normal production not being maintained as well as with hand milking.

Within the last few years a machine has been introduced that promises to be a practical success. This machine which originated in Scotland, where it is known as the Lawrence-Kennedy machine, has been carried to various other countries where it has been more or less modified. In America the improved machine is called the Burrell-Lawrence-

Kennedy, in Australia and New Zealand it has been introduced as the Lawrence-Kennedy-Gillies milking machine.

The milking machines are certainly to be used most extensively on the larger dairy farms, where it is difficult to obtain a sufficient corps of efficient milkers. Especially in the younger countries, America and Australia, is the problem of obtaining help for the maintainance of a large dairy an important and difficult one. In America many of the larger dairy farms are producing milk for the city markets. There is a widespread movement in the American cities to demand a better and purer milk supply, a milk product which is not only free from pathogenic bacteria, but which has as low a bacterial content as possible. Many of the American cities require that the milk supplied to their citizens shall not contain over 500 000 bacteria per c. c. Some have the much more rigid standard of 100 000.

On account of this growing demand for better milk in America, it is certain that any milking machine to be a success must be able, when used with intelligence and judgment, to produce milk with a low bacterial content. In order to determine whether the type of machine most widely used in America at the present time satisfies this requirement, a series of comparative examinations of machine-drawn and hand-drawn milk produced under the same barn conditions, was made.

The machine.

The machine consists of a can in which a partial vacuum is maintained by means of an air pump located outside of the stable proper, and from which a line of pipe is carried through the stable, with openings for the attachment of the rubber tube from the can into which the milk is drawn. The can is provided with an air tight cover with two openings to which are attached the rubber tubes leading to the connector. The connector has four openings above, to which are attached the tubes leading to the teat cups. In the connector is a vent into which air is constantly drawn so as to facilitate the flow of the milk through the tube leading to the can.

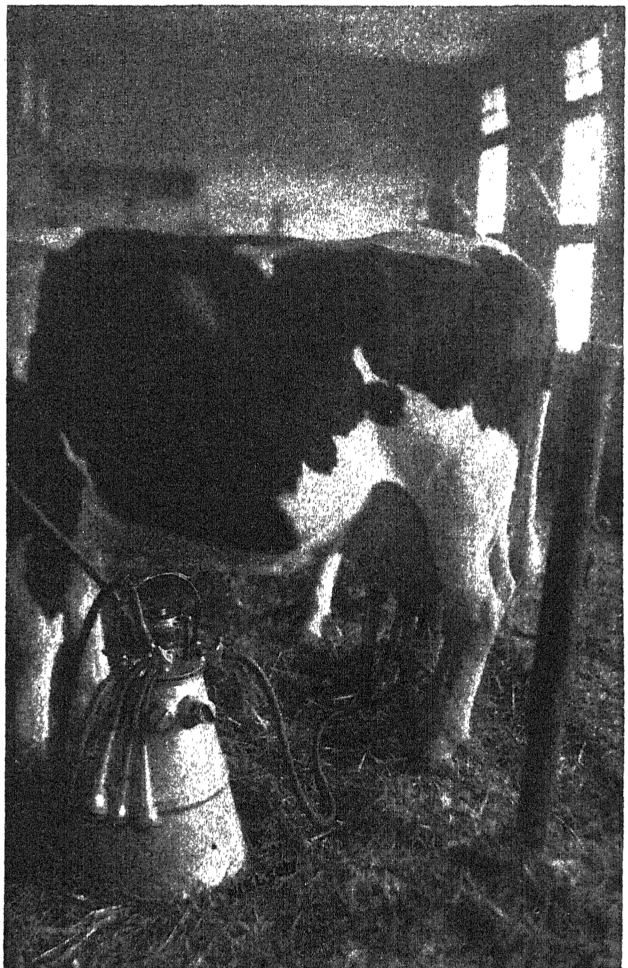
The vacuum maintained equals about 350 m. m. It is, however, partially relieved at frequent intervals by the pulsator, located on the cover of the can, and which is actuated by the air passing into the machine, through the air relief in the can cover. The pulsator relieves the vacuum about 50 times per minute. A pressure of about one-half an atmosphere is thus maintained on the udder, forcing the milk out. The intermittent relief allows the teats to fill with milk, and then to be emptied because of the increase in pressure following each relief.

It will be noted from the reproduction of a view of the machine in operation and from the above brief description that the machine is necessarily complicated in its construction. The rubber tubes leading to the receiving can are about one meter long; those connected with the teat cups 150 m. m. These, together with the cover of the can, are the only parts of the machine that are at all difficult to clean.

It will also be noted that air is constantly being drawn into the machine, at the connector below the teat cups, and at the cover of the receiving can. If the air admitted contains bacteria and dust, these will be held in the milk. To obviate this source of contamination, the air vents are provided with filters of cotton wool, which are renewed at

each milking, or at least every 24 hours. In case the teat cups fit the animal, and the remainder of the machine is in order, no air passes in except at the vents protected with cotton-wool filters.

It is estimated that about one cubic meter of air passes through the machine during the milking of a single animal. Hence when no filters are used and the air is very dusty as is likely to be the case



The milking machine in use. One set of teat cups is hanging on the handle of the receiving can. The connector is seen at the ends of the short tubber tubes fastened to the teat cups. The air relief is seen on the side of the connector. The rubber tube leading toward the upper left hand connects the can with the pipe leading to the air pump.

when the animals are disturbing the dry litter more or less soiled with manure, the contamination of the milk from this source may become of great importance, as has been shown by Stocking[1]).

1) Bull. 47, Storrs Exp. Sta., Storrs, Connecticut.

Sources of contamination.

With hand milking under ordinary farm conditions, at least while the cattle are in the stable, the most important source of contamination is the dirt from the flanks and udder of the animal, which is constantly being dislodged by the motions of the milker, and falling into the pail. Various methods of lessening the amount of dirt thus gaining entrance to the milk are used, such as clipping of the hair from the udder and flanks, the wiping of the udder with a damp cloth just before milking, the washing and wiping of the udder, and the use of pails with small openings, sometimes provided with strainers. As has been shown by numerous investigators, such precautions materially diminish the number of bacteria gaining entrance to the milk. With the milking machine this source of contamination is almost wholly excluded. The contamination from the interior of the udder should be the same in machine and hand milking, unless the machine has an injurious effect on the udder, lowering its resistance and thus allowing the bacteria to grow more abundantly than in the case of hand milking. The utensils employed in hand milking are simple and of such a construction as to be easily kept clean. The milking machine is complex and difficult to wash. This fact may introduce a serious source of contamination, unless methods can be devised for easily maintaining the machine in a sanitary condition.

The rubber teat cups, and especially the rubber tubes, cannot be cleaned in the ordinary way. It is impossible to remove all traces of milk from them, or to dry them so as to prevent bacterial growth between the periods of milking. The sterilization of the tubes by steam, or by hot water, is difficult, and injurious to the rubber. The only way to maintain them in a sanitary condition is to immerse them in an antiseptic solution which will prevent all growth of bacteria between the periods of use and render harmless any traces of milk which may remain on the walls of the tube.

The work of Stocking[1]) and Edwards[2]) resolves itself into a comparison of various methods suggested for the treatment of the rubber tubes and other parts of the machine. Solutions of common salt, of lime, and of formalin have been recommended, as most efficient for this purpose.

It would seem that with clean utensils the difference in bacterial content of machine- and hand-drawn milk should depend upon the amount of contamination from the animal. In barns where this is great, the difference in favor of machine-drawn versus hand-drawn milk should be considerable. Under more cleanly conditions, the difference should be much diminished, and under the best conditions, disappear.

Barn conditions.

In the stable of the University of Wisconsin where the following trials were made, no elaborate precautions are taken to prevent contamination of the milk. The construction of the stable is such, cement floors and mangers, metal ceiling and walls, that it can be easily kept clean. The animals are kept free from filth, but no cleaning, other than wiping with a dry cloth, previous to milking, is done. Pails with 30 cm openings are used.

1) Bull. 42. Storrs Exp. Sta., Storrs, Connecticut; Bull. 92, Bureau of Animal Industry, U. S. Dept. of Agr. Washington, D. C.

2) Bull. 159. Ont. Agr. Coll., Guelph. Ontario.

The rubber parts of the machines have been immersed between the periods of use in lime water, care has been taken to use fresh lime and to maintain an excess in the water, and to place the tubes in the solution in such a way that they should be completely filled, and should not contain bubbles of air.

The alkalinity of lime water is almost exactly that of a twentieth normal solution, or sufficient to prevent the growth of all ordinary forms of bacteria and of molds. This solution is unobjectionable for if small amounts of it should be left in the tubes, due to imperfect rinsing before milking, it would not injure the milk. The solution has also a preservative effect on the rubber, as is evident from the fact that the tubes on the machines were in perfect condition after eighteen months of constant use.

The remaining parts of the machine were rinsed in cold water, washed in hot water, and then well steamed. The time required to prepare a machine for milking and to clean it subsequent thereto is about 18 minutes.

Cleanliness of machine.

A number of examinations were made of the lime water in which the rubber tubes were kept. The results of the examinations are collected in Table I.

Table I. Bacterial content of lime water.

Date	Feb. 16	Mch. 1	Mch. 5	Mch. 7	Apr. 3	Aug. 14	Apr. 7
Bacteria per c.c.	72	25	100	180	125	14	225

Repeated examinations of the machine have been made by passing sterile water through the teat-cups and connecting rubber tubes into the receiving can and preparing plate-cultures from samples of the water.

In Table II are collected the data obtained from the examination of the machine:

Table II. Bacterial content of water passed through the milking machine.

Date	Dec. 19 1906	Jan. 11 1907	Jan. 15	Mch. 12	Aug. 14	Aug. 15	Aug. 21	Apr. 17 1908
Quantity of water used, in liters	—	4	4,5	4	4	30	25	45
Bacteria per c. c. of water	100	30	190	70	1300	570	690	180

It will be seen from the results that even with the use of large quantities of water the bacterial content was very considerable, and that the machines, as used in these trials, must be considered as one of the sources of contamination, and quite an important one, when the bacterial content of the milk is considered. There were however no especial precautions taken in the care of the machines and sterile utensils were not to be expected. It is certain that with greater care this source of contamination could be almost wholly excluded.

Quantitative results.

Since the problem was a comparative examination of hand- and machine-drawn milk, the methods used are of no great importance. Agar containing 1 per cent of lactose was used. The Petri dish cultures were incubated at 37° C for 48 hours. The samples of milk from individual animals, were taken from the pails after the milking of the animal was the completed. The samples of machine-drawn milk did not include the strippings from the animal which were drawn into a separate open pail. These samples were collected at irregular intervals during a period of about one year, and represent both summer and winter conditions. In Table III (see p. 228) the results obtained are given. The period between successive examinations of milk from the same animal varied widely from a day to several weeks.

One hundred and fifty samples of machine-drawn milk were examined. Of these, 75,3 per cent contained less than 5000 bacteria per c. c., 8 per cent between 5000 and 10 000, and 16,6 per cent exceeded 10 000. One hundred and thirty-five samples of the hand-drawn milk of individual animals were examined, 63,7 per cent of which showed less than 5000 bacteria per c. c., 13,3 per cent between 5000 and 10 000, and 22,9 per cent over 10 000. The results obtained from the examination of the milk of individual animals are slightly in favor of the machine.

From all the data at hand and from the qualitative results, it is evident that the bacteria in the machine-drawn milk came largely from the interior of the udder; examinations on successive days giving similar results. Marked variations in the germ content of the milk of individual animals were noted only when the examinations were made at considerable intervals. With hand-drawn milk the results are more erratic, varying widely from day to day, as would be expected when it is remembered that a portion of the bacteria were carried into the milk with the dirt from the animals, and this is not a constant factor of contamination.

Quantitative bacterial content of composite samples.

At the beginning of the work it was not possible to take composite samples representing the milk of several animals milked by the machine and compare the results obtained with the data collected from the examination of a number of samples drawn by hand at the same milkings. Later it was possible to make such a comparison. The samples of hand-drawn milk were taken from a can containing about 40 liters, representing the milk of a number of animals. An equal amount of machine-drawn milk was sampled at the same time. The plate cultures were made 3—4 hours after the milk was drawn. The data collected are given in Table IV (see p. 229).

Of the 32 samples of hand-drawn milk, 78 per cent contained less than 5000 bacteria per c. c.; 12,5 per cent between 5000 and 10000 per c. c., and 9,4 per cent contained over 10 000 per c. c. Out of an equal number of machine-drawn samples, 47 per cent contained less than 5000; 34,3 per cent between 5000 and 10 000 per c. c., while 18,7 per cent exceeded 10 000 per c. c.

The results of the quantitative examination of the milk of individual animals and also the data collected from the examination of the composite samples are summarized in Table V (see p. 229).

Table III. Quantitative bacterial content of machine-drawn and hand-drawn milk.

Machine-drawn.

Sample No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Christinia	1 170	18 170	390	100	600	540	980	850	1 090	1 000	2 350					
Countess	310	2 770	17 650	5 330	3 110	11 750	3 810	3 530	1 750	1 460	1 690	1 230				
Dorine	21 850	2 580	65 200	126 000	56 500	59 500	11 330	14 120	14 600	27 700	5 960	16 440	33 300	14 700	7 730	5 900
Double Time	15 700	490	9 000	8 720	310	8 800	1 500	10 600								
Hannah	27 950		2 020	16 950	1 880	4 700	10 000	2 560	2 300	3 890	3 790	1 050	960	1 280	3 040	1 600
Josephine	2 460	2 160	6 270	3 230	5 580	2 470	950	1 170	1 940	4 240	2 060	2 490	2 440	1 770		
Just in Time	1 140	1 830	1 960	3 820	5 630	2 180	1 740	1 410	2 490	2 210	2 170	2 950				
Jewell	7 000	2 030	174 000	8 130	1 320	4 630	4 500	8 330								
Jessie	660	1 530	121 000	1 390	10 100	32 700	4 830	1 930	1 260	3 070	2 020	4 190	4 480	1 010	2 050	9 410
Maggie	380	1 840	1 390	100	1 180	1 540	1 030	330	730	1 100	2 250	11 100				
Ormsby	140	140	210	180	310	150	1 290	840	440	2 660	1 130	340	400	330		
Perchance	3 070	890	790	8 260	2 530	410	1 510	590	4 770	1 310	1 250	320				

Hand-drawn.

Sample No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Alma	5 510	1 370	4 410	4 300	4 640	2 450	4 880	4 520								
Brownie	14 560	19 950	8 660	15 130	25 400	23 300	11 500	5 230	13 430	4 110	11 000	23 200	18 850	100 750	14 400	14 460
Irma	10 900	2 300	892 000	137 000	4 310	6 260	7 030	9 710	6 600	1 320	3 460	10 840				
Jeanette	190	9 330	5 910	6 400	1 260	300	830									
Johanna	600	320	1 190	4 460	7 290	19 330	32 800									
Jewell	1 830	3 630	4 040	390	16 600											
Joe	560	950	510	510	1 110											
Muriel	1 730	6 860	27 000	4 330	16 260	3 480	2 050	2 840	3 180	2 370	2 590					
Marcella	3 650	870	1 580	630	560	1 020	920	2 070	1 020	1 560	2 440	56 500	6 140	6 530		
Merney	2 480	1 080	150	370	1 420	3 530	1 700	170	270							
Margaret	330	640	250	4 940	7 630	4 810	2 200	3 730	3 680	2 330	2 930	1 600	1 860	1 300		
Marie	31 420	12 000	11 100	41 200	40 700	6 000	6 020									
Mollie	1 130	190	180	1 610												
Priscilla	14 300	1 230	2 180	500	1 330											
Sadie	3 130	3 430	4 870	5 750	10 000	910	17 400	1 150	830	350	1 000					

Table IV. Quantitative bacterial content of composite samples of machine-drawn and hand-drawn milk.

Date	Bacteria per c. c. Machine-drawn	Bacteria per c. c. Hand-drawn	Date	Bacteria per c. c. Machine-drawn	Bacteria per c. c. Hand-drawn
March 6	3 800	1 800	May 4	1 560	300
„ 10	7 100	1 500	„ 5	11 350	700
„ 11	2 160	200	„ 6	6 350	5 800
„ 13	3 450	2 700	„ 7	6 400	1 200
„ 16	5 300	2 500	„ 8	4 500	1 200
„ 18	20 900	14 900	„ 13	9 300	4 300
„ 20	12 850	9 550	„ 14	900	5 000
„ 23	5 600	47 600	„ 16	25 700	1 300
„ 25	6 560	64 000	„ 18	2 200	2 300
„ 27	8 230	800	„ 19	11 200	2 000
„ 30	18 000	4 730	„ 20	1 500	1 300
April 1	3 700	5 600	„ 21	4 400	2 000
„ 2	3 100	900	„ 22	9 050	3 100
„ 6	600	1 030	„ 27	4 400	2 150
May 1	1 150	600	„ 28	7 050	3 050
„ 2	2 960	760	„ 29	9 500	2 750

Table V. Comparison of hand-drawn and machine-drawn milks, expressed in per cent of total samples examined.

Bacteria per c. c. of milk	Milk from single animals		Milk from a number of animals	
	Hand-drawn	Machine-drawn	Hand-drawn	Machine-drawn
Less than 5000	63,7 %	75,3 %	78 %	47 %
Between 5000 and 10 000	13,3 „	8 „	12,5 „	34,3 „
Over 10 000	22,9 „	16,6 „	9,4 „	18,7 „

From the data it will be seen that in the case of the samples collected from individual animals, the results are slightly in favor of the machine-drawn milk. While with the composite samples, the reverse is true. In the collection of the samples from individual animals, they were taken from the can of the machine. The composite samples were made up of the milk drawn into the can of the machine, from the can the milk was poured into an open pail so that the milk of each cow could be weighed. Into this pail was also drawn any milk that the machine was unable to draw from the udder of the animal in question. These strippings were usually small in quantity, but the extra opportunity which these procedures offered for contamination undoubtedly had some influence on the less favorable results obtained with the machine in the case of the composite samples.

From the quantitative data it is evident that there is no important difference between the two kinds of milks. The variations that occur are largely due to the difference in numbers coming from the udder of the individual animals. The germ content of the milk, while low, could be diminished farther in the case of both hand- and machine-drawn milks by paying greater attention to details than is done in the University stable.

It seems evident that on a farm where the condition of the animals would be less satisfactory and where the machine would be kept as in these trials, the results would be more markedly in favor of the machine.

Qualitative results.

A number of examinations were made in order to determine the relative number of the various classes of bacteria present, using for this purpose lactose-litmus-gelatine, as recommended by Conn. The data obtained are given in Table VI.

Table VI. Quantitative bacterial content of hand- and machine-drawn milk.

	Rapidly liquefying bacteria per cent	Pitted liquefying bacteria per cent	Acid forming bacteria per cent	Inert bacteria per cent
Machine-drawn	6,0	12,0	26,6	55,3
	0,2	24,4	24,4	50,9
	0,0	40,6	17,1	42,2
	10,9	7,4	27,5	54,6
	5,2	13,7	40	41,1
Average	4,4	19,6	27,1	48,8
Hand-drawn	3,8	4,4	24,8	67,4
	14,6	3,6	42,5	52,5
	11,6	0,0	30,6	59,4
	11,2	2,6	24,7	61,8
	3,5	9,7	17	69,8
Average	8,9	4,8	27,9	62,1

The pitted or slowly liquefying bacteria and the types having no action on lactose-litmus-gelatine, inert forms, both of which come largely from the interior of the udder make up a slightly larger percentage of the bacteria in the machine-drawn than in the hand-drawn milk. While the opposite is the case with those forms lactic acid and rapidly liquefying bacteria, coming from exterior sources.

The keeping quality of the milks is an index of the number and kind of bacteria present. A considerable number of comparative tests were made. No marked or constant differences in the keeping quality of the samples could be noted.

Leucocyte content of the milks.

In many American cities there is included in the routine examinations made of the samples of milk collected by the health authorities, a determination of the number of leucocytes, in order to determine the presence of udder troubles in the herd from which the milk was obtained. In order to ascertain whether the milking machine exerted any injurious influence on the udders of the animals, a number of determinations of the leucocyte content of the milk of individual animals were made. The samples examined represent the milk of the animals for a period before and after the machine was put into use.

The leucocytes were determined by the method proposed by Doane and Buckley[1]). Ten c. c. of milk are centrifuged for 10 minutes. The supernatant cream and skim milk are then removed by means of a pointed glass tube attached to a Bunsen pump by a rubber tube leaving one-half c. c. in the tube. This is thoroughly mixed to uniformily distri-

1) Bull. 102, Maryland Exp. Sta. College Park, Maryland.

bute the leucocytes thrown down. A Thoma-Zeiss blood counting cell is filled with the mixture, as in the case of the examination of blood. The results are collected in Table VII.

Table VII. Leucocyte content of hand- and machine-drawn milk, expressed in thousands per c. c.

	Hand-drawn										Machine-drawn				
	October										A. M. October	P.M. October	November		
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	31	1	2	3
Dorine	126	864	307	241	344	560	1060	525	262	750	531	310	791	491	564
Double Time	90	64	169	67	70	65	36	66	145	69	91	157	166	54	162
Flora	99	50	111	100	137	102	55	137	77	41	71	86	79	77	107
Johanna	501	1157	970	654	232	275	49	52	49	—	51	30	46	25	55
Josephine	362	597	301	169	419	222	276	341	619	229	291	204	300	194	164
Just in Time	12	15	15	16	19	15	19	12	21	19	73	20	49	27	37
Laura	595	1166	685	3650	841	1329	1281	1266	2451	3627	822	510	307	494	1225
Maggie	264	185	664	1066	347	610	366	294	1214	581	481	335	981	512	614
Ormsby	99	182	79	269	175	151	187	210	167	250	194	150	125	142	162
Perchance	39	62	46	62	65	60	51	31	172	135	185	115	380	110	125

The machine was used for the first time on October 31, 1906, as is indicated in the table. It will be seen that in all cases the leucocyte content of the milk of each animal was much the same after the machine was placed in use as before. This indicates that no injurious effect on the udder was connected with the introduction of the machine. This view is strengthened by repeated physical examinations of the animals, extending over eighteen months.

Conclusion.

Bacteriological examinations, made at irregular intervals for eighteen months, of machine-drawn milk and of milk drawn by hand under similar barn conditions, and on the same days, show that the bacterial content of the machine-drawn milk is no greater than that of the milk drawn by hand. It is probable that under less favorable stable conditions the results would be greatly in favor of the machine. The machine apparently exerts no injurious effect on the mammary glands, as measured by the leucocyte content of the milk.

Neue Beobachtungen über die Zersetzung des französischen Senfs durch Bakterien.

[Aus dem Laboratorium der k. k. landwirtschaftlich-bakteriologischen und Pflanzenschutz-Station in Wien.]

(Vorläufige Mitteilung.)

Von Prof. Dr. **Alexander Kossowicz.**

Untersuchungen, die im Jahre 1902/3 auf Ansuchen einer inländischen Senffabrik im Laboratorium für Gärungsphysiologie und Bakteriologie an der k. k. technischen Hochschule in Wien an französischem Senf,

der sich in Zersetzung befand, von mir ausgeführt wurden, hatten als Erreger dieser Zersetzung zwei Bakterien ergeben: Bacillus sinapivorax und Bac. sinapivagus (Zeitschrift für das Landwirtsch. Versuchswesen in Oesterreich. Bd. VIII. 1905. p. 645 und Bd. IX. 1906. p. 111). Durch kleine Aenderungen im Betrieb wurde damals der Störung Einhalt getan. Heuer trat nun in dieser Fabrik nach einer sechsjährigen Unterbrechung abermals eine solche weitgehende Betriebsstörung ein. Auch der den Zwischenhändlern und Konsumenten gelieferte Senf zeigte zumeist nachträglich eine kräftige Gasentwickelung, die vielfach zur gewaltsamen Sprengung des Verschlusses führte. Es kamen zahlreiche diesbezügliche Beschwerden der Fabrik zu, wodurch sich die Notwendigkeit ergab, die gesamte Fabrikation in allen ihren Stadien, ebenso wie auch sämtliche Rohmaterialien einer eingehenden mykologischen Prüfung zu unterziehen. Es zeigte sich nun, daß wohl in den ersten 24 Stunden nach dem Einlegen der gequetschten Senfsamen in Essig eine nicht unbedeutende Verminderung der von den Senfsamen herrührenden und der durch Außeninfektion in die Einweich(Maisch)-Bottiche gelangten Mikroflora eintrat, daß aber einige Bakterien, wie Bacillus sinapivagus, ebensowie andere Vertreter der Mesentericus- und Subtilis-Gruppe den ganzen Maischprozeß überdauern und trotz des hohen Essig- und Senfölgehaltes auch in ganz frischem, der Mühle entnommenem Senf auch dann nachzuweisen waren, wenn dem Senf während der Enzymgärung $^1/_2$ Proz. Milchsäure oder $^1/_2$ Proz. Wasserstoffsuperoxyd zugesetzt worden waren, wobei allerdings im letzteren Falle zu berücksichtigen ist, daß Wasserstoffsuperoxyd durch Enzyme zerstört wird (Lafars Handbuch der Techn. Mykologie. Bd. I. p. 688, Bd. II. p. 151). Die genauen zahlenmäßigen Befunde sowie die eingehendere Beschreibung der isolierten Mikroorganismen sollen später veröffentlicht werden.

Erwähnt sei noch, daß auf Senfsamen der Jahre 1907 und 1908, die von mehreren Lieferanten aus verschiedenen Orten bezogen worden waren, wobei eine Infektion in der Fabrik sorgfältig vermieden wurde, das Vorhandensein von Bac. sinapivagus festgestellt werden konnte.

Die Temperaturen in den Maischbottichen erfuhren vom Einlegen der gequetschten Senfsamen in Essig bis zum Zeitpunkte des Mahlens nur jene Veränderungen, die durch die Außentemperaturen bedingt waren; erst beim Mahlen steigt die Temperatur, und zwar beim Grobmahlen auf 30—35 ^{0} C, beim darauffolgenden Feinmahlen auf ca. 50 bis 55 ^{0} C.

Auch eine Sterilisierung des fertigen Senfes durch Hitze hatte nur dann Erfolg, wenn die 200—500 ccm fassenden Senftiegel länger als 25 Minuten strömendem Dampf ausgesetzt wurden, wobei aber der Senf einen leichten Kochgeschmack erhält.

Die Untersuchungen wurden auch auf Senfproben anderer Herkunft ausgedehnt, und zwar betrafen sie Proben aus 4 niederösterreichischen, 2 böhmischen und mährischen, 2 galizischen und 4 ungarischen Fabriken.

Die Bakterienflora dieser Senfmuster zeigte im allgemeinen eine recht große Uebereinstimmung, es handelte sich zumeist um Bacillus sinapivagus = Bacillus mesentericus sinapivagus und andere Mesentericus-Arten, einige dieser Proben enthielten auch den Bacillus sinapivorax und zeigten deutliche Spuren der charakteristischen „Bakteriengärung". Aus zwei in weitgehender Zersetzung befindlichen Senfproben ungarischer Provenienz, von denen die eine einen

sehr unangenehmen Geschmack und Fäkaliengeruch aufwies, konnte auch Bacterium vulgare (Proteus vulgaris) isoliert werden (Zeitschr. f. d. Landw. Versuchswesen in Oesterreich. Bd. XI. 1908. p. 721). Während ein durch die eingangs erwähnten Bakterien zersetzter Senf auch bei längerem Gebrauch keine gesundheitsstörende Wirkung auszuüben scheint, müßte ein Senf der letzterwähnten Art vom hygienischen Standpunkte unbedingt beanstandet werden. Von einem solchen Fall erzählt E. Bertarelli (Zeitschr. f. Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel etc. Bd. XVI. 1908. p. 353). Auf den bakteriologischen Teil seiner Arbeit, die erst während der Drucklegung der vorliegenden Abhandlung erschienen ist, möchte ich noch in aller Kürze eingehen. Es ist ganz untunlich, eine Arbeit, deren Titel sehr deutlich auf eine gewisse Gleichartigkeit des behandelten Stoffes hinweist, überdies in der vom Autor selbst gebrauchten Sprache verfaßt, und in einer leicht zugänglichen Zeitschrift erschienen ist, nur aus einem mangelhaften Referat zu zitieren. Bei Durchsicht der Originalarbeit hätte sich Bertarelli überflüssige Wiederholungen von Beobachtungen, die schon einige Jahre früher veröffentlicht worden waren, ferner falsche Anführungen und Vermutungen, denen seitens Bertarellis keinerlei Versuche zugrunde gelegt wurden, für deren Unrichtigkeit gleichfalls experimentelle Befunde vorliegen, die vom Autor der vorliegenden Abhandlung schon im Jahre 1905 publiziert wurden, erspart. So findet man in Bertarellis Arbeit die Stelle: „K. empfiehlt den Zusatz von 0,5—1-proz. Essigsäure, um die Veränderung des Senfs zu vermeiden.“ In der Originalabhandlung (Zeitschr. f. das Landw. Versuchswesen in Oesterreich. Bd. IX. 1906. p. 115) heißt es dagegen: „Es wird also statt Wasser ein stark verdünnter Essig ($^1/_2$—$1^1/_2$ Proz.) verwendet, durch kräftiges Mischen die Senfölbildung und zugleich die Entwickelungshemmung der Bakterien gefördert und erst nach 6—12 Stunden stärkerer Essig zugesetzt.“ Es folgt dann gleich darauf noch der ergänzende Zusatz, daß auch das der Senfmaische zuzusetzende Gewürz vorher durch ca. 12 Stunden in 4- bis 5-proz. Essig einzulegen sei. Die neuen Betriebsstörungen führten übrigens zu neuen Maßregeln (Anwendung von Knoblauchessig etc.) und einer weiteren Umgestaltung der Fabrikationsweise, auf die bei anderer Gelegenheit noch näher eingegangen werden soll.

Ebenso unrichtig ist es, wenn Bertarelli die Behauptung aufstellt: „Dem myronsauren Kali (Myronat) kommt die keimtötende Wirkung größtenteils zu.“ Die B. gleichfalls unbekannt gebliebene Arbeit des Verfassers (Zeitschr. f. das Landw. Versuchswesen in Oesterreich. Bd. VIII. 1905. p. 650), die sich mit dem Verhalten der Bakterien zu Sinigrin und der bakteriziden Wirkung des Senföls beschäftigt, weist zunächst darauf hin, daß von den zahlreichen daraufhin geprüften Bakterien die meisten in einer mit 0,5 Proz. Sinigrin (myronsaurem Kali) versetzten mineralischen Zuckerlösung gute Entwickelung gezeigt hätten (die Bakterien werden in der weiteren Folge auch namentlich angeführt), und bringt dann die folgenden Stelle: „Die Vergärung von Saccharose, Raffinose und Galaktose durch hierzu befähigte Bakterien, wie Bact. synxanthum und Bact. lactis aërogenes, wird auch durch 2 Proz. Sinigrin, also die vierfache Konzentration der eben angegebenen, nicht verhindert.“

Neu ist die Feststellung Bertarellis, daß sich der von ihm untersuchte Senf gesundheitsstörend erweise, und daß die von ihm beobachtete Zersetzung durch eine Bakterie erfolgte, die er für Proteus

Zenckeri halten möchte. Ob sich diese Bakterie nach Gram färbt oder nicht, erscheint auch nicht ganz klar ersichtlich.

Bertarellis Gegenüberstellung von „moutarde diaphane“ und „Senf französischer Herkunft“ erscheint nicht ganz zutreffend. Die Bezeichnung „moutarde diaphane“ ist bloß ein Phantasiename, den gerade die Schutzmarke einer großen französischen Senffabrik trägt. Auf die Fabrikation als solche hat er gar keinen direkten Bezug. Die Turiner Fabrik, deren Senf B. untersucht hat, dürfte daher wohl kaum berechtigt sein, ihren Senf so zu benennen.

Es sei noch gegenüber der Aeußerung Bertarellis hervorgehoben, daß auch ein Senf, der keinen Anchovis zugesetzt erhält, Zersetzungserscheinungen zeigen kann.

Manchmal gehen die im gebrauchsfertigen, die Mühle verlassenden Senf vorhandenen Bakterien bei entsprechendem Aufbewahren des Senfs zugrunde, so daß sich Senf zuweilen auch bakterienfrei erweisen wird, was aber nur selten der Fall ist, wie dies durch einfaches Aufstreichen von Senf auf sterilisierte Kartoffelscheiben nachgewiesen werden kann; zumeist wird Entwickelung von Mesentericus-Arten wahrzunehmen sein.

Ueber stickstofffixierende Bakterien. IV.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des landwirtschaftlichen Instituts der Universität Leipzig.]

Von Dr. **F. Löhnis** (Ref.) und Prof. **T. Westermann**, Kopenhagen.

Mit 1 Tafel.

Es wurde bereits von mehreren Autoren gelegentlich dem Wunsche Ausdruck gegeben, die an verschiedenen Stellen isolierten Azotobacter-Stämme möchten einer vergleichenden Untersuchung unterzogen werden. Wir haben eine größere Zahl derartiger Kulturen geprüft und wollen nachstehend über die dabei erlangten Resultate Bericht erstatten. Als Fortsetzung früherer Mitteilungen[1]) fügen wir dem die Beschreibung einer neuen sporenbildenden, aëroben, stickstofffixierenden Art, des Bacillus danicus, bei, die ein Gegenstück darstellt zu dem aus indischer Erde isolierten Bac. malabarensis.

Vergleichende Azotobacter-Untersuchungen.

Folgende 21 Azotobacter-Kulturen wurden geprüft:

1)	Azotobacter	chroococcum,	alter Stamm	von Prof. Beijerinck
2)	„	„	Stamm A	
3)	„	„	Stamm B	
4)	„	„	var. M.	
5)	„	agilis		
6)	„	chroococcum,	Stamm 1906	von Dr. Vogel
7)	„	„	Stamm 1907	
8)	„	„	Stamm 1908	
9)	„	„	aus Kopenhagen (isoliert von Prof. Westermann)	
10)	„	„	Stamm Madison A	von Prof. Lipman
11)	„	„	„ Madison B	
12)	„	„	„ California	
13)	„	„	„ Louisiana	
14)	„	„	„ Ohio	
15)	„	Beijerinckii		
16)	„	vinelandii,	Stamm New Jersey	
17)	„	„	„ Ohio	

1) Löhnis und Pillai, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIX. p. 87.

18) Azotobacter Beijerinckii } von Prof. Lipman isoliert, in Kopenhagen von
19) „ vinelandii } Assistent Christensen weitergezüchtet
20) „ Stamm Leipzig 1904 (isoliert von Dr. Löhnis).
21) „ „ „ 1907 (isoliert von Dr. Pillai).

Den Herren Prof. Beijerinck in Delft, Prof. Lipman in New Brunswick und Dr. Vogel in Bromberg sind wir für liebenswürdige Ueberweisung der erbetenen Kulturen zu aufrichtigem Danke verpflichtet. Gern hätten wir auch die von Herrn Dr. Düggeli[1]) früher untersuchten, in morphologischer Hinsicht besonders interessanten Azotobacter-Kulturen berücksichtigt. Sie waren jedoch nicht mehr vorhanden, und leider gelang es uns auch nicht, aus den Züricher Erdproben, die uns Herr Dr. Düggeli zu übersenden die Freundlichkeit hatte, zu Isolierungszwecken geeignete Anhäufungskulturen zu erhalten. Azotobacter trat darin nur in so geringer Menge auf, daß es unmöglich war, geeignetes Prüfungsmaterial zu gewinnen.

In bezug auf die Herkunft der untersuchten Stämme sei noch bemerkt, daß No. 1—3 aus Delfter Gartenerde, No. 4 und 5 aus Delfter Grabenwasser stammen; No. 6—8 wurden 1906, 1907 bezw. 1908 aus dem leichten Boden des zum Kaiser-Wilhelm-Institut in Bromberg gehörigen Versuchsfeldes isoliert, No. 9 im Herbst 1907 aus Lehmboden vom Demonstrationsfelde der Kgl. landwirtschaftlichen Hochschule in Kopenhagen, No. 10 und 11 entstammen einer Kultur, die vor 3 Jahren aus Erde von Madison, N. J., gewonnen wurde. Ueber die Unterschiede der beiden aus der Originalkultur gewonnenen Formen wird sogleich näher zu sprechen sein. Die aus californischer Erde stammende Kultur (No. 12) wurde vor ca. 8 Monaten isoliert, dagegen handelt es sich bei No. 13 um eine 4 Jahre alte Sammlungskultur. Stamm No. 14 wurde kürzlich aus Erde von Columbus, Ohio, gezüchtet. No. 15 und No. 18 sind Abimpfungen einer Stammkultur, die Prof. Lipman bei der Untersuchung einer von Assistent Christensen aus Kopenhagener Erde gewonnenen Rohkultur erhielt, ebenso stellen No. 16 und No. 19 Nachzuchten einer vor 5 Jahren isolierten Stammkultur dar. No. 17 wurde kürzlich aus derselben Erdprobe gewonnen, der auch No. 14 entstammte. No. 20 und 21 wurden im Jahre 1904 bezw. 1907 aus Erde von dem zum Leipziger landwirtschaftlichen Institute gehörigen Versuchsfelde Oberholz isoliert.

Von bereits vorliegenden Beschreibungen kommen vor allem in Betracht: für Azotobacter chroococcum die Angaben von Beijerinck[2]), Vogel[3]) und Freudenreich[4]), für Azotobacter agilis ebenfalls die Mitteilungen Beijerincks, für Azotobacter Beijerinckii und vinelandii zwei aus der Feder Lipmans[5]) herrührende Arbeiten. Auf sie wird weiterhin an den betreffenden Stellen Bezug zu nehmen sein. Von den Leipziger Azotobacter-Stämmen wurde kürzlich[6]) mitgeteilt, daß sie nie eine Verfärbung zeigten, während sie dagegen allerdings im Verein mit Dematium pullulans üppige

---

1) Düggeli, Verhandlungen d. Schweizer. naturf. Gesellschaft. Jahresvers. Luzern 1905.
2) Beijerinck, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VII. p. 568 ff.
3) Gerlach und Vogel, l. c. Bd. VIII. p. 670. Bd. IX. p. 820.
4) Freudenreich, l. c. Bd. X. p. 517.
5) Ann. Report of the New Jersey Agric. Exp. Station for the year 1904. p. 235. dgl. for the year 1905. p. 254.
6) Löhnis und Pillai, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XX. p. 797.

dunkle Beläge bildeten. Wie aus den nachstehenden Ausführungen zu ersehen sein wird, unterscheiden sie sich auch im übrigen recht deutlich von den anderwärts gezüchteten Formen. Infolge der stark ausgeprägten Konstanz ihrer Eigenschaften dürften diese Stämme wohl nicht mit Unrecht als Vertreter eines besonderen Typus anzusehen sein. Wir wollen sie weiterhin als Azotobacter vitreum bezeichnen.

Die Speciesfrage lassen wir absichtlich offen. Wie bereits in früheren Arbeiten im Anschluß an die gleichen Ansichten erfolgreicher Bakteriologen (Beijerinck, K. B. Lehmann u. a.) dargelegt wurde, dürfte es bei dem gegenwärtigen Stande der Bakteriologie unseres Erachtens das Richtigste sein, die geprüften Stämme in Gruppen und Typen zusammenzufassen, wobei sowohl die gemeinsamen wie die unterscheidenden Merkmale in der übersichtlichsten Weise zur Geltung kommen. Die nähere Beschäftigung mit den verschiedenen Azotobacter-Stämmen ließ es als zweckmäßig erscheinen, sie in vier Typen zusammenzufassen, und zwar sind dies:

1) Azotobacter chroococcum, ausgezeichnet durch braune bis schwarze Verfärbung der Beläge auf festen Substraten und der oberflächlichen Ansammlungen in Lösungen,

2) Azotobacter Beijerinckii, mit schwefelgelber Verfärbung im Sarcina-Stadium,

3) Azotobacter agile[1]), fluoreszierend und lebhaft beweglich,

4) Azotobacter vitreum, stets unbeweglich, nur in Kugelform auftretend, auf verschiedenen Nährböden durchscheinende, glasige Schleimmassen produzierend.

Zu Azotobacter chroococcum stellen wir von den von uns untersuchten Stämmen: No. 1—3 und 6—14, zu Azotobacter Beijerinckii: No. 15 und 18, zu Azotobacter agile: No. 4, 5, 16, 17 und 19, zu Azotobacter vitreum: No. 20 und 21. Wie sich aus den folgenden Beschreibungen der an den geprüften Stämmen ermittelten Eigenschaften ergibt, könnte man zwar sehr wohl, namentlich dann, wenn man auch so unbedeutende Abweichungen, wie sie Migula bei der Aufstellung seiner zahlreichen „Arten" als ausschlaggebend erachtete, als wirkliche Speciesmerkmale bewerten wollte, innerhalb jener 4 Typen mehr oder minder zahlreiche „Arten" absondern, indessen scheint es doch zweckmäßiger, vor allem im Hinblick auf die an anderen, bereits eingehender studierten Bakteriengruppen gesammelten Erfahrungen, der Möglichkeit größerer oder geringerer Variabilität von vornherein entsprechend Rechnung zu tragen. Daß diese in der Tat auch bei Azotobacter-Stämmen sehr beträchtlich sein kann, wird insbesondere aus dem, was wir über Azotobacter Madison A mitzuteilen haben, deutlich zu ersehen sein.

Was zunächst Form und Größe der verschiedenen Azotobacter-Formen anlangt, ist folgendes zu bemerken. Für Chroococcum gab Beijerinck an: In jungen Kulturen plumpe Stäbchen mit abgerundeten Enden, 4:5—7 μ, oft große Doppelkokken, Schleimhüllen von wechselnder Dicke, im Innern granuliert; in alten Kulturen ziemlich kleine Kokken, zum Teil in Sarcinaform, in flüssigen Substraten auch mitunter sehr große Involutionsformen (10—15 μ). Vogel ermittelte die Maße der Stäbchen zu 3—4 μ Breite und 5—7 μ, ausnahmsweise bis 20 μ

1) Da es im Hinblick auf die analogen Wortbildungen (Granulobacter, Aërobacter etc.) richtiger erscheint, das (statt, wie üblich, der) Azotobacter zu sagen, so geben wir der obigen Adjektivform den Vorzug.

Länge, in älteren Kulturen fand er gleichfalls vorwiegend Kugelformen, die an kleine Hefezellen erinnerten. Freudenreichs Präparate ergaben als Größenverhältnisse durchschnittlich 2—3 : 4 μ, neben größeren und kleineren Formen; von Fleischagar wurden sehr kleine Kokken erhalten. In Uebereinstimmung hiermit sahen wir bei den von uns geprüften Chroococcum-Stämmen europäischer Herkunft, sowie bei den beiden amerikanischen Stämmen Madison A und B, wenn sie auf Mannitagar gezüchtet wurden (ziemlich gleichgültig, ob nur 4 oder 21 Tage, ob bei 20 oder 28°) Kurzstäbchen und Kokken, meist in den Dimensionen 2—3 : 3—4, bei Doppelstäbchen 4—6 μ. Als untere Grenze der Breitenmaße wurden 1½, als obere Grenze der Längenmaße 7 μ ermittelt. Teils überwogen die Stäbchenformen (so bei No. 6, 9, 11), teils die Kokken (z. B. bei No. 7). Beijerincks Stamm A (No. 2) lieferte viele Uebergänge zum Sarcina-Stadium, trotzdem zeigten die Kulturen zu dieser Zeit noch keine Verfärbung. Auch die mit Material von Fleischagar, Gelatine, Bouillon und von Kartoffeln angefertigten Präparate zeigten im ganzen nichts Auffälliges; kleine Kokken herrschten entschieden vor, doch fanden sich auch größere, zum Teil sehr große Gebilde (wie die in Beijerincks Arbeit abgebildeten Involutionsformen) und auf Kartoffeln lieferten speziell die Vogelschen Stämme kurze wurmförmige und auch birnenförmige Gebilde, wie sie bei mehreren der amerikanischen Stämme häufig zu sehen waren. In Milch zeigten die Kokken und Stäbchen sehr gute Entwickelung, überhaupt scheint dieser bisher fast gar nicht für diese Zwecke verwendete Nährboden Azotobacter sehr zuzusagen, wie aus den weiterhin folgenden Angaben näher zu ersehen ist. — Deutlich abweichende Formen lieferten die drei amerikanischen Chroococcum-Stämme von Ohio, Louisiana und California. Die Maße waren geringer; von Mannitagar: 1—1½—2 : 1½—2—3 μ, häufig kamen sehr lange, bis 50 μ messende Fäden vor, die dadurch besonders auffällig wurden, daß zwischen die schmalen, gut färbbaren Fadenstücke ungefärbte, teils kleinere, teils größere blasige Zwischenglieder eingeschaltet waren. Solche sehr eigenartige Bilder lieferte besonders No. 13 (von Louisiana). In alten Mannit- oder Glukoseagarkulturen waren auch Streptokokken nicht selten, die neben Kokken, Fäden und ausgesprochen birnenförmigen Involutionsformen auf Fleischnährböden gleichfalls anzutreffen waren. Es wird sogleich näher darzulegen sein, daß auch in ihrem kulturellen Verhalten die drei zuletzt genannten amerikanischen Stämme sich ziemlich deutlich von den europäischen Kulturen und den beiden Madison-Varietäten unterscheiden. Leider konnten wir, wie gesagt, jener schweizerischen Azotobacter-Formen nicht habhaft werden, bei denen Düggeli sehr schön ausgebildete Streptokokken sowie einseitig zugespitzte Gestalten sah, so daß es vorläufig dahingestellt bleiben muß, ob jene eigenartigen amerikanischen Chroococcum-Varietäten auch in Europa entsprechende Gegenstücke finden oder nicht.

Azotobacter Beijerinckii lieferte bei der Isolierung Lipman sehr ansehnliche ovale Gestalten, die größere Dimensionen als Chroococcum aufwiesen. Sie kamen einzeln, zu zweien oder in Ketten bis zu 5 Gliedern vor. H. Fischer[1]) erhielt von dieser Form ebenfalls, und zwar vorwiegend streptokokkenartige Verbände, während er Sarcina-Formen so gut wie vollständig vermißte. Bei der Prüfung unserer beiden

1) H. Fischer, Verh. des naturhist. Vereins der preuß. Rheinlande etc. 1905. p. 138.

Stämme, die, wie gesagt, auf eine Originalkultur Lipmans zurückzuführen sind, erhielten wir folgende Befunde: No. 18, die über Kopenhagen zu uns gelangt war, lieferte von Mannitagar (vorwiegend) Stäbchen und (weniger) Kokken, die durchaus den typischen Chroococcum-Zellen glichen (von Mannitagar 2—3 : 3—6 μ), Streptokokken waren nur vereinzelt in Bouillon und auf der Kartoffel aufzufinden; No. 15 dagegen, die direkt aus Amerika zu uns gelangt war, ging beim Abimpfen sofort in die (gelbwachsende) Sarcina-Form über und blieb dabei während der ganzen Dauer der Untersuchung. Lipman hat diese eigenartigen hellgelben Beläge auch, und zwar auf mit Mannitlösung getränktem Papier gesehen, doch scheinen keine mikroskopischen Präparate davon angefertigt worden zu sein. Fleischnährböden, Kartoffel und Milch lieferten vorwiegend kleinere und größere Kokken, sowie chroococcumartige Stäbchen, speziell von Bouillon und Kartoffeln erhielten wir auch hier allerhand faden- und wurmförmige Involutionsformen. H. Fischer hat ebenfalls solche Bildungen bei Azotobacter Beijerinckii beobachtet und abgebildet.

Azotobacter agile zeigte ebenso wie Azotobacter chroococcum var. M. von Beijerinck im Ausstrichpräparat junger Kulturen die typischen Kokken- und Stäbchenformen. Die amerikanischen Vinelandii-Stämme differierten in derselben Weise, wie dies oben für die Mehrzahl der amerikanischen Chroococcum-Stämme beschrieben wurde. Faden- und birnenförmige, sogar deutlich verzweigte Gestalten waren, namentlich in älteren Kulturen (speziell in Bouillon und auf Kartoffel) häufig. Doch neigten auch die beiden Stämme Beijerincks, und zwar diese besonders auf Gelatine und Traubenzuckeragar sehr zur Bildung von (hauptsächlich fadenförmigen) Involutionsformen. Auch jene schlauchartigen Gestalten erhielten wir hier, wie sie H. Fischer für Azotobacter vinelandii abgebildet hat.

In bezug auf Azotobacter vitreum wurde bereits oben kurz bemerkt, daß dieses in morphologischer Hinsicht durch das vollständige Fehlen von Stäbchenformen ausgezeichnet ist. Die Kokken messen von Mannitagar in der Regel ca. 2 μ; auf Fleischagar und in Bouillon entstehen sehr große kugelige Riesenzellen und im letztgenannten Substrat auch sehr schöne großzellige Sarcina-Pakete.

Bei der Prüfung der Färbbarkeit ergab es sich, daß in Uebereinstimmung mit dem bereits Berichteten die aus Milch angefertigten Präparate stets sehr schön und gleichmäßig tingiert wurden. Auch die jungen Kulturen auf Mannitagar lieferten Objekte, die, $^1/_2$ Minute mit Karbolfuchsin behandelt, meist kräftig gefärbt erschienen; zum Teil trat die Granulierung noch deutlich hervor. Bei einigen Stämmen nahm nur die innere Partie die Farbe gut an, während die Hülle mehr oder minder vollständig ungefärbt blieb, doch waren bestimmte Regelmäßigkeiten in dieser Hinsicht nicht zu konstatieren. Alte Kulturen lieferten meist ungleichmäßig gefärbte Bilder. Deutlichere Unterschiede als in diesen Fällen zeigten die verschiedenen Azotobacter-Typen bei der Behandlung nach Gram. Chroococcum wurde in allen Fällen vollständig entfärbt, Vinelandii hielt die Farbe etwas zurück, so daß die Formen schwach gefärbt erschienen. Besonders interessant waren aber die Präparate von Az. Beijerinckii und vitreum. Bei jenem verhielt sich der eine Stamm, der typische Kokken und Stäbchen lieferte, durchaus negativ wie Chroococcum; der andere, in Sarcina-Form wachsende, zeigte zum Teil sehr intensiv gefärbte Zellen, und zwar wechselte die

Intensität der Färbung mitunter sehr beträchtlich an den Zellen ein und desselben Sarcina-Paketes. Desgleichen lieferte Azotobacter vitreum, und von diesem wieder der Stamm 1904, in demselben Präparate nebeneinander sehr intensiv und sehr schwach gefärbte Individuen.

Beweglichkeit konnte Beijerinck bei seinen Chroococcum-Stämmen nur in sehr jungen Reinkulturen konstatieren, und es waren immer nur einzelne Zellen, die sich langsam bewegten. Meist war nur eine polare Geißel, seltener ein seitlich inseriertes Geißelbüschel vorhanden. Mit diesen Beobachtungen stimmen die Ergebnisse unserer Untersuchungen in der Hauptsache überein. Lebhaftere Bewegung als gewöhnlich, aber auch stets nur in einzelnen Exemplaren, zeigten die Chroococcum-Stämme aus Kopenhagen, California und speziell aus Louisiana; im letztgenannten Falle lieferte sogar eine 52 Tage alte Agarkultur noch sehr lebhaft bewegliche Individuen. Den europäischen, langsam beweglichen Stämmen schien nach den zunächst an jungen Agarkulturen gemachten Beobachtungen die Beweglichkeit überhaupt zu fehlen, doch erhielten wir dann aus 14 Tage alter Bouillon stets Präparate, an denen die charakteristische Bewegung einwandfrei zu konstatieren war. — Ganz ähnlich verhielt es sich mit Az. Beijerinckii. Auch hier konnten wir zunächst, in Uebereinstimmung mit den betreffenden Angaben Lipmans, keine Beweglichkeit wahrnehmen. Doch lehrten uns wiederum die Präparate aus 3 Wochen alter Bouillon, daß diesem Typus dieselbe Art der Bewegung, wie sie die meisten Chroococcum-Stämme zeigen, eigen ist. — Für Azotobacter agile ist bekanntlich eine sehr lebhafte und an fast allen Individuen wahrnehmbare Beweglichkeit charakteristisch. In der Schnelligkeit des Hineilens übertrafen die Vinelandii-Stämme sowie Beijerincks Az. chroococcum var. M. die alte Stammkultur von Az. agile noch um einiges. Während Beijerinck bei dieser Geißelbüschel erhielt, konnten wir an den amerikanischen Stämmen nur je eine polare, sehr lange Geißel sehen. Es ist möglich, daß hier dieselben Schwankungen in der Art der Begeißelung vorkommen, wie sie für Chroococcum festgestellt sind. — Azotobacter vitreum zeigte, wie erwähnt, niemals Beweglichkeit.

Die Kolonieen auf der Mannitagarplatte sind nach Beijerincks Beschreibung bei Az. chroococcum kleisterartig und entwickeln sich allmählich zu großen Schleimklumpen. Freudenreich berichtet von runden weißen Kolonieen mit dunklerem Zentrum, meist mit konzentrischen Ringen, die allmählich bis zu $^1/_2$ cm Durchmesser heranwachsen und dunkelbraun werden. Lehmann und Neumann[1]) weisen außerdem auf die an älteren Kolonieen wahrnehmbare radiäre Streifung hin. Bei unseren Untersuchungen, zu denen wir, wie früher, Mannit-Bodenextrakt-Agar verwendeten, konnten wir bei makroskopischer Betrachtung der Platten als typisch folgendes Bild feststellen: Nach 3—4 Tagen bei 28° erscheinen die Oberflächenkolonieen 1—3 mm im Durchmesser kreisrund, hellgrau, glasig durchscheinend, mit weißem Zentrum (ähnlich den Knöllchenbakterien); im Agar bleiben die Kolonieen klein, $^1/_2$—1 mm, scheiben- oder linsenförmig, weiß, undurchsichtig; am Boden der Kulturschale finden sich 2—3 mm breite graue, in der Mitte weißliche Schleier mit undeutlichem Rand, zum Teil Zonenbildung aufweisend. So verhielten sich sämtliche Chroococcum-Stämme europäischer Herkunft. Als atypisch wäre demgegenüber das Aussehen der

1) Lehmann und Neumann, Diagnostik. 4. Aufl. 1907. p. 83.

unter gleichen Bedingungen von den amerikanischen Chroococcum-Stämmen erhaltenen Kolonieen zu bezeichnen. No. 11—14 lieferten an der Oberfläche 1—3 mm breite, kreisrunde, weißliche, kompakte, wenig durchscheinende, glänzende, kreisrunde Scheiben. Die im Agar oder am Boden liegenden Kolonieen waren bei No. 11 und 12 typisch, bei No. 13 und 14 zeigten die Tiefenkolonieen ein unregelmäßiges, buckeliges Aussehen. Ganz abweichend war dagegen das Bild der Oberflächen- und Bodenkolonieen bei No. 10. Hier zeigten sich (nach 4 Tagen bei 28°) an der Oberfläche $\frac{1}{2}$—$\frac{3}{4}$ cm große, kreisrunde, glasig durchscheinende, unregelmäßig grauweiß getrübte Kolonieen, die wie Schmutzwassertropfen aussahen und bald eintrockneten. Dementsprechend erschienen am Boden $\frac{1}{2}$ cm breite, graue, konzentrisch abschattierte Schleier. Das Aussehen war so von dem gewohnten abweichend, daß zunächst die Annahme berechtigt erschien, es handele sich hier um einen besonderen Typus. Indessen zeigte sich, wie aus den weiteren Mitteilungen über die kulturellen Eigenschaften dieses Stammes, der auch im mikroskopischen Präparat ganz und gar das typische Aussehen des Chroococcum dokumentierte, zu ersehen sein wird, daß stets Rückschläge auf die typische Form vorkamen, und in Uebereinstimmung hiermit erhielten wir nach längere Zeit hindurch immer von neuem wiederholter Anfertigung von Gußkulturen, wobei das Impfmaterial stets einer gut isolierten Kolonie entnommen wurde, schließlich Platten, auf denen alle Abstufungen zwischen den beiden Extremen gleichzeitig auftraten. — Bei der mikroskopischen Betrachtung ergaben sich ebenso wie bei der makroskopischen Prüfung und in noch verstärktem Maße Abweichungen verschiedener Art. Am häufigsten erschienen die (innerhalb 3—4 Tagen bei 28° gewachsenen) Oberflächenkolonieen bei schwacher (10—20-facher) Vergrößerung scharfrandig, kreisrund, zum Teil mit schwach gebuchtetem oder welligem Rande. Die ganze weiße Fläche zeigte deutlich haarartige dunkelgraue Granulierung, das Zentrum war in der Regel weniger, die Randpartie mehr durchscheinend. Oft trat eine mehr oder minder stark ausgeprägte radiäre Streifung hervor (so bei No. 1—3, 6—8 und 11—14), dazu kamen mitunter in der Mitte dunkle, schollige Ansammlungen (so bei No. 2 und 14). Bei einem Stamme (No. 7) schloß sich die radiäre Streifung am Rande wieder zu einem breiten, dunklen Ring zusammen, so daß das ganze Bild wie das einer von oben gesehenen Qualle erschien. Ganz abweichend erwiesen sich bei der mikroskopischen Betrachtung die (makroskopisch ganz typischen) Oberflächenkolonieen von dem Kopenhagener Chroococcum-Stamm (No. 9). Hier fehlte die haarartige schwarzgraue Streifung vollständig, statt dessen war eine ganz zarte, bräunliche Körnelung zu sehen, besonders dicht im Zentrum und am Rande, während dazwischen ein unregelmäßiges braunes Netzwerk rein weiße Felder umgrenzte. Die im Agar liegenden Kolonieen waren fast durchgängig schwarzgrau, nicht oder wenig durchscheinend, völlig scharfrandig dann, wenn sie schräg im Gesichtsfeld standen; lagen sie dagegen horizontal, so trat die grobe Granulierung am Rande deutlich hervor. Nur bei Az. Louisiana und später auch bei Ohio (No. 13 und 14) nahmen die Tiefenkolonieen ein ganz unregelmäßiges knollig-warziges Aussehen an; im übrigen waren auch sie im Zentrum nicht, am Rande wenig durchscheinend, grob granuliert. Die Bodenkolonieen erschienen in der typischen Ausbildung schwarzgrau, in der Mitte dunkler, am Rande hell durchscheinend; die ganze Fläche war grob haarartig granuliert, zum Teil mit radiär verlaufenden Strahlen, der Rand meist

etwas unregelmäßig, besonders an den Enden der Radiärstrahlen nach außen fein gezackt. Nur der Kopenhagener Stamm (No. 9) zeigte auch in dieser Hinsicht ein abweichendes, dem Aussehen der Oberflächenkolonieen entsprechendes Verhalten: hier waren die Bodenkolonieen bräunlich (nicht schwarzgrau) granuliert, im Zentrum am stärksten, nach dem Rande hin in Zonen abnehmend. — Im ganzen erinnerte das mikroskopische Bild der Chroococcum-Kolonieen sehr an dasjenige, was man bei der Betrachtung mancher Formen aus der Mesentericus-Gruppe antrifft. Die auf der Tafel unter No. 5—7 wiedergegebenen Photogramme von Mannitagarkolonieen des hierher gehörigen sporenbildenden Bac. danicus könnten recht wohl als Chroococcum-Kolonieen angesprochen werden. Die ganz atypischen großen wässerigen Kolonieen, die der Stamm Madison A lieferte, erschienen mikroskopisch kreisrund, scharfrandig, kräftig granuliert, hell durchscheinend. In dem reichlichen glasigen Schleim waren die vereinzelten Individuen deutlich zu erkennen (vergl. Az. Beijerinckii). Die im Agar liegenden Kolonieen zeigten das typische Aussehen, während die schwer erkennbaren Bodenkolonieen im Zentrum grobe, bräunliche Granulierung zeigten, darum eine oder mehrere deutlich abgesetzte Zonen und am Rande wiederum die einzelnen Individuen deutlich isoliert.

Auf den längere Zeit hindurch aufbewahrten Platten bildeten sich bei sämtlichen europäischen Chroococcum-Stämmen sowie bei Stamm Madison B allmählich teils kreisrund bleibende, teils Rosettenform annehmende, bis 1 cm im Durchmesser haltende weißliche, erhabene, stark glänzende Ansammlungen, die meist deutliche Zonenbildung erkennen ließen und einen wulstigen, radiär gefalteten Rand besaßen. Nach etwa 10 Tagen begann das Zentrum sich zu bräunen und gleichzeitig ein wenig einzusinken; die weiße Randpartie hob sich in diesem Stadium meist sehr scharf ab. — Bei den drei atypischen amerikanischen Stämmen (No. 12—14) blieben die Kolonieen dauernd relativ klein (3—5 mm), Stamm Ohio wurde rasch vollständig schwarzbraun, California zeigte das charakteristische kreisrunde, dunkle Zentrum mit weißem unregelmäßigen Rand, Louisiana blieb auf der Platte 3 Wochen hindurch ganz weiß.

Von den beiden Stämmen von Azotobacter Beijerinckii wuchs, wie gesagt, nur der eine dauernd in der normalen Stäbchenform, während der andere auf den Platten nur Sarcina-Kolonieen lieferte und dann auch während der ganzen Dauer der Untersuchung in diesem Stadium blieb [1]). Die normalen Oberflächenkolonieen waren nach 3 Tagen bei 28° $^1/_2$—2 mm groß, kreisrund, weiß, die kleineren undurchsichtig, die größeren schwach durchscheinend, mit weißem undurchsichtigen Zentrum. Tiefen- und Bodenkolonieen glichen bei der makroskopischen Prüfung denen von Chroococcum vollständig. Unter dem Mikroskop erschienen die Oberflächenkolonieen kreisrund, scharfrandig, stark granuliert; bei 70-facher Vergrößerung waren die einzelnen Individuen deutlich zu erkennen, besonders am Rande der Kolonie, wo sie gut isoliert im glashellen Schleime eingebettet lagen. Die im Agar liegenden Kolonieen präsentierten sich wie diejenigen des Chroococcum. Am Boden

1) Wie seltsam manchmal hierbei die Verhältnisse liegen und wie schwer die Ursachen dieser plötzlichen Aenderungen erkennbar sind, zeigte sich z. B. sehr deutlich an einem bei Beijerincks Stamm A beobachteten Fall. Bei dem ganz in gewöhnlicher Weise durchgeführten Plattengießen war die erste Platte besät mit zahlreichen, durchaus normalen Kolonieen, auf der gleichzeitig mit der nächsten Verdünnung gegossenen Platte traten ausschließlich gelblich gefärbte Sarcina-Kolonieen auf.

erschienen sie schwarzgrau, schwach durchscheinend, regelmäßig fein granuliert, mit undeutlichem Rande.

In bezug auf Azotobacter agile ist zu bemerken, daß von dem von Prof. Beijerinck erhaltenen Agilis-Stamme, der ebenso wie Beijerincks Chroococcum var. M. auf unserem Mannitagar nicht recht wachsen wollte, nur einige weißlich gefärbte Sarcina-Kolonieen erhalten werden konnten. Daß Agilis unter geeigneten Züchtungsbedingungen Fluoreszenz im Agar hervorruft, wurde von Beijerinck festgestellt. Desgleichen fluoreszierte die von Prof. Beijerinck übersandte, auf Glukoseagar gewachsene Kultur von Chroococcum var. M. sehr kräftig. Ganz übereinstimmend verhielten sich in dieser Hinsicht die drei von uns untersuchten Vinelandii-Stämme, die namentlich auf den dicht besäten Platten prächtige blaugrüne Fluoreszenz hervorriefen. Sowohl aus diesem Grunde, wie wegen der sonstigen, sehr weitgehenden Uebereinstimmung glauben wir sie eben in diesen Typus einreihen zu müssen. Makroskopisch erschienen die Oberflächenkolonieen (nach 3—4 Tagen bei 28°) als 1—2 mm breite, kreisrunde, weißgraue Scheiben, glasig durchscheinend, zum Teil mit weißem Zentrum. Die im Agar und am Boden liegenden Kolonieen erschienen wie die der typischen Chroococcum-Formen. Bei mikroskopischer Betrachtung zeigten sich die Oberflächenkolonieen scharfrandig, kreisrund oder ein wenig gebuchtet, stark lichtbrechend, durchscheinend und sehr gleichmäßig bis zum Rande hin fein granuliert. Die Bodenkolonieen ähnelten den Oberflächenkolonieen, doch erwiesen sie sich im ganzen zarter und der Rand war oft fein gezackt. Die im Agar eingeschlossenen Tiefenkolonieen stimmten mit denen von Chroococcum (typische Form) ganz überein. Bei längerer Aufbewahrung der Platten erreichten die Kolonieen von Stamm No. 16 und 19 (Vinelandii New Jersey) nach ca. 3 Wochen eine Größe von 4 mm im Durchmesser; das erhabene Zentrum war hier von einem meist unregelmäßigen, radiär gefalteten Rande umgeben. Seltener zeigten sich glatte, stark schleimig glänzende, wenig erhabene Scheiben. Die Kolonieen von Vinelandii Ohio (No. 17) blieben ebenso wie die von Chroococcum var. M. (No. 4) dauernd sehr klein.

Azotobacter vitreum liefert nach 3—4 Tagen bei 28° Kolonieen, die makroskopisch an der Oberfläche als 1—3 mm große weiße, schwach durchscheinende, stark glänzende, kreisrunde, etwas erhabene Ansammlungen bemerkbar werden. Im Agar sind sie $^1/_2$—1 mm groß weiß, undurchsichtig, scheiben- oder linsenförmig, während die Bodenkolonieen wieder eine Größe von 2—3 mm im Durchmesser erreichen, und als kreisrunde, weißgraue, durchscheinende Schleier erscheinen. Mikroskopisch erweisen sich die Oberflächenkolonieen kreisrund, scharfrandig, gleichmäßig schwarzgrau, stark granuliert. Die im Agar liegenden sind schwarzgrau, scharfrandig, bei schräger Lage ganz undurchsichtig, bei horizontaler Lage schwach durchscheinend, stark granuliert. Die Bodenkolonieen sind ebenfalls kreisrund, schwarzgrau granuliert, in der Mitte dunkler, nach dem Rande zu heller und mit undeutlicher Peripherie.

Die Mannitagarstrichkulturen waren bei den verschiedenen Chroococcum-Stämmen durch die bald früher, bald später eintretende Bräunung des Belages charakterisiert. Art und Intensität der Färbung differierten sehr. Zum Beispiel nahm der besonders lange Zeit hindurch fortlaufend in dieser Richtung genau geprüfte Kopenhagener Stamm (No. 9) erst immer fast genau 10 Tage nach der Impfung eine schwarzbraune Farbe an, bis plötzlich eine Abimpfung erst nach Verlauf eines vollen

Monats einen schwachen bräunlichen Anflug zeigte, im übrigen aber ein schleimig-glasiges Aussehen behielt und im Kondenswasser einen ausgesprochen gelblichen Bodensatz bildete. Diese Erscheinungen blieben im nächsten Beobachtungsmonat konstant. Die drei Stämme von Vogel (No. 6—8) wuchsen in den ersten Abimpfungen hellbraun, in den später angelegten schwarzbraun. Ebenso verhielt sich Beijerincks alter Stamm (No. 1). Stamm A von Beijerinck (No. 2) blieb zunächst völlig weiß, er bildete, wie erwähnt, sogar gelblich gefärbte Sarcina-Kolonieen, die sehr an diejenigen von Azotobacter Beijerinckii erinnerten. In späteren Abimpfungen wurde er ausgesprochen dunkelbraun, und zwar rascher, als dies jetzt bei Stamm B von Beijerinck (No. 3) der Fall war, der dagegen in den ersten Abimpfungen durch besonders raschen Farbenumschlag ausgezeichnet war. Eine Abimpfung von Stamm Madison B (No. 11) nahm erst nach 20 Tagen eine hellbraune Färbung an; die nächste hiervon angelegte Kultur war dagegen bereits nach 5 Tagen tief dunkelbraun. Während bei den bisher besprochenen (auch hinsichtlich der Koloniebildung als typisch anzusehenden) Stämmen der Farbenton am besten als schokoladenbraun bezeichnet werden kann, zeigten die anderen amerikanischen Stämme, wie auf der Platte, so auch im Reagenzglase ein atypisches Verhalten. Die Farbe war, solange sie nicht kräftig ausgebildet war, mehr einem schmutzigen Graubraun gleich, bei dem Stamm Ohio (No. 14) wurde sie schließlich vollständig schwarz. Gerade dieser Stamm lieferte dann solche eigentümliche, ziemlich trockene, teilweise fein runzelige, tiefschwarze Beläge, wie sie für die Mischkulturen von Az. vitreum und Dematium pullulans charakteristisch sind. Aber ganz zweifellos handelte es sich in jenem Falle um einwandfreie Azotobacter-Reinkulturen, die also nahezu das gleiche Bild hervorrufen können. Meist waren die Beläge auf dem Agar etwas erhaben, die Randpartie wulstig, später runzelig und faltig (No. 1—3, 6—9 und 11). Nur die (atypischen) Stämme California, Louisiana und Ohio (No. 12—14) lieferten, analog den Kolonieen auf der Platte, dünne, flachbleibende Beläge. Am dünnsten, geradezu hautartig waren sie bei No. 14, wo sich aber im unteren feuchten Teile später ganz an Mesentericus erinnernde Hautfalten bildeten. Die Schleimproduktion war, wenn wir von dem noch zu besprechenden Stamm Madison A (No. 10) zunächst absehen, entschieden am kräftigsten bei dem Kopenhagener Stamm (No. 9), der, wie in der gelblichen Färbung des Bodensatzes, so auch hierin dem Az. Beijerinckii (gleicher Herkunft) ähnelte. Auch noch sehr schleimig, aber doch schon trockener und weniger glänzend wuchsen Beijerincks und Vogels Stämme, sowie Stamm Madison B (No. 1—3, 6—8 und 11), besonders dieser zeigte infolge starker Runzelung der Oberfläche nur matten Glanz. Bei den anderen drei amerikanischen Stämmen (No. 12—14) fehlte die Schleimproduktion so gut wie vollständig, doch zeigten die dünnen Beläge starken Glanz. Zum Teil waren die Beläge, solange die Bräunung noch nicht eingesetzt hatte, gleichmäßig weißlich durchscheinend bis undurchsichtig weiß, zum Teil zeigte sich in dem durchscheinenden Schleim ein unregelmäßiges weißliches Netzwerk, am ausgeprägtesten wieder bei Stamm No. 9, der sich auch in dieser Hinsicht Az. Beijerinckii näherte. Sehr auffallend war das Verhalten von Stamm Madison A (No. 10). Die erste Strichkultur, die von einer der Schmutzwassertropfen-Kolonieen angelegt wurde, wie sie die von Prof. Lipman übersandte Originalkultur neben den typischen Chroococcum-Kolonieen lieferte, wuchs in den ersten Tagen entsprechend dem Aussehen auf der Platte

auch in der Strichkultur als dünnflüssiger grauweißer, glasiger Belag, der das Kondenswasser stark trübte und einen reichlichen schleimigen Bodensatz darin hervorrief. Das Bild ähnelte außerordentlich dem, wie es sogleich für Azotobacter vitreum zu beschreiben sein wird, doch lieferte das Ausstrichpräparat stets die typischen Chroococcum-Formen. Nach 10 Tagen entwickelten sich auf dem nun schon ziemlich eingetrockneten glasigen Belag in großer Zahl kleine kompakte weißliche Kolonieen, das Kondenswasser klärte sich und es sammelte sich darin ein flockiger gelblich-weißer Bodensatz an. Das Aussehen des so entstandenen Belages ähnelte nun demjenigen von Azotobacter Beijerinckii sehr, schließlich aber (nach 6—8 Wochen) trat auch zuerst an der Glaswandung Bräunung ein. Natürlich glaubten wir zunächst, daß eine Verunreinigung mit dem als Madison B abgezweigten typischen Chroococcum-Stamme vorläge. Aber so oft auch die Anfertigung von Gußkulturen wiederholt wurde, immer kehrte in der Strichkultur, die natürlich stets von einer besonders gut isoliert liegenden Kolonie angefertigt wurde, dieser eigentümliche Wechsel im Aussehen wieder. Und wie bereits oben dargelegt wurde, erhielten wir auch schließlich auf der Platte, nach mehrmaliger Wiederholung der Gußkultur, nebeneinander alle Uebergänge von den wassertropfenartigen bis zu den völlig kompakten weißen Kolonieen, so daß es sich hier wirklich um sehr weitgehende Variationen zu handeln scheint. Eine ganz sichere Entscheidung ist natürlich kaum möglich. Es ist hinlänglich bekannt, wie schon mitunter Azotobacter von unerwünschten Begleitern zu trennen ist. In diesem Falle gibt aber stets eine sorgfältige mikroskopische Prüfung sofort zuverlässige Auskunft darüber, ob eine Reinkultur vorliegt oder nicht. In unserem Falle dagegen, wo das mikroskopische Bild ganz das gleiche ist, mag man nun das glasige, wässerige Material oder die weiße kompakte Masse zum Präparat verarbeiten, ist natürlich auf diesem Wege ein maßgebendes Urteil nicht erreichbar. Wir müssen uns darauf beschränken, zu konstatieren, daß wir, solange wir die Prüfungen fortsetzten, mit der größten Regelmäßigkeit diesen Wechsel im Aussehen der Kolonieen und der Strichkulturen wahrnehmen konnten; daß es sich dabei wirklich um Variationen gehandelt hat, ist zum mindesten nicht unwahrscheinlich. Zu berücksichtigen ist hierbei auch noch, daß Az. vitreum, dessen Strichkulturen sehr denjenigen ähneln, wie sie der Stamm Madison A an den ersten Tagen lieferte, sowohl im mikroskopischen Bilde, wie im Aussehen der Kolonieen auf der Platte, ohne weiteres von dieser Form zu unterscheiden ist.

Der eine Stamm von Azotobacter Beijerinckii, der auf der Platte nur Sarcina-Kolonieen lieferte (No. 15), wuchs im Strich in Form eines dürftigen, grauen, körnigen Belages, an dem nichts Besonderes wahrzunehmen war. Der andere, in normaler Weise sich entwickelnde Stamm (No. 18) lieferte eine üppige, grauweiße, undurchsichtige, schleimig glänzende erhabene Auflage mit etwas unregelmäßigem Rand. Nach ca. 3 Wochen war fast die gesamte Agarfläche bedeckt, die Farbe ging etwas ins Gelbliche über. Schließlich nach 2 Monaten trat auch unverkennbar eine helle Bräunung ein, so daß dieser Stamm sich immer mehr dem Chroococcum-Typus näherte und zwar speziell jenem Kopenhagener Chroococcum-Stamm (No. 9), der aus Erde von derselben Gegend isoliert wurde, dem in letzter Linie auch die von Prof. Lipman isolierte Beijerinckii-Kultur entstammte. Wie oben berichtet wurde, zeigte Beijerincks Stamm A (No. 2) ebenfalls in mancher Hinsicht

Annäherungen an den Beijerinckii-Typus, und es ist danach keineswegs unwahrscheinlich, daß weiterhin noch mehr Uebergangsformen zwischen diesen beiden Typen gefunden werden, dafür spricht auch die weitgehende Uebereinstimmung im mikroskopischen Verhalten.

Von den 5 Stämmen des Azotobacter agile-Typus konnten wir nur die drei Vinelandii-Formen zu kräftiger Entwickelung bringen. Beijerincks Az. agilis und Az. chroococcum var. M. (No. 4 und 5) lieferten uns in den Strichkulturen nur dürftige, graue, durchscheinende, dünne Beläge, in dem klaren Kondenswasser war nur wenig weißlicher Bodensatz vorhanden, Fluoreszenz trat nicht ein, trotzdem sie speziell der Stamm No. 5. als er in unsere Hände gelangte, auf Glukoseagar noch sehr schön zeigte. Die beiden aus New Jersey stammenden Vinelandii-Stämme (No. 16 und 19) lieferten übereinstimmend in der Mannitagarstrichkultur ausgebreitete, schleimige grauweiße, erhabene, glänzende, durchscheinende Beläge mit weißlicher netzartiger Zeichnung und etwas unregelmäßigem Rande. Das Kondenswasser blieb klar; nur etwas flockiger, gelblich weißer Bodensatz sammelte sich darin an. Das Agar fluoreszierte in der ersten Zeit sehr schön grün (die Farbe war ganz wie bei Fluorescens- oder bei fluoreszierenden Mesentericus-Stämmen bei durchfallendem Licht gelbgrün, bei auffallendem blaugrün), später ging die Färbung in ein schwer definierbares schmutziges rötliches Graubraun über. Az. vinelandii Ohio (No. 17) differierte von den New Jersey-Stämmen nur insofern, als hier der Belag sehr dünn, hautartig, nicht schleimig entwickelt war (vgl. das analoge Verhalten von dem aus derselben Erdprobe isolierten Chroococcum-Stamm aus Ohio).

Azotobacter vitreum liefert in der Mannitagarstrichkultur einen reichlichen, erhabenen, glasartig durchscheinenden glänzenden glatten Belag, in dem zuweilen, doch nicht immer, eine verstreute weißliche Zeichnung wahrgenommen werden kann. Der Rand ist ziemlich regelmäßig, das Kondenswasser erst getrübt, später klar, der weißliche Bodensatz *nicht flockig, sondern schleimig*. Das Aussehen des Belages ähnelt im ganzen demjenigen des Bact. radicicola sehr.

In der Fleischagarstrichkultur zeigten von den verschiedenen Chroococcum-Stämmen nur die oben als typisch bezeichneten Stämme (No. 1—3, 6—9 und 11, sämtliche europäischer Herkunft und Madison B) leidliche Entwickelung. Die Stämme Madison A, California, Louisiana und Ohio (No. 10, 12—14) versagten trotz wiederholter Impfung vollkommen. Freudenreich sah bei seinem Stamm eine geringe, dünne, graue, später bräunliche Auflage, ebenso bezeichnen sie Lehmann und Neumann als kümmerlich, grau bis braun. Bei unseren Prüfungen lieferte Beijerincks alter Stamm (No. 1) einen geringen, dünnen, grauen, stellenweise bräunlich werdenden Belag. Bei den anderen Stämmen war die Entwickelung ziemlich gut, die Auflage 3—5 mm breit, erst weißgrau, glänzend, wenig durchscheinend, oft etwas granuliert oder fein runzlig, nach ca. 10 Tagen zeigte der jetzt ein wenig erhabene, mattglänzende Belag einen Stich ins Gelbliche, der Rand wurde etwas unregelmäßig. Die Färbung ging später in Bräunlichgelb, schließlich in ein helles Rotbraun über. Das Kondenswasser blieb klar und enthielt ziemlich reichlichen, gelblichweißen Bodensatz. — Az. Beijerinckii lieferte im Sarcina-Stadium (No. 15) nach mehrfach wiederholter Impfung einen aus einzelnen kleinen gelben Kolonieen bestehenden, ausgebreiteten, mattglänzenden Belag; das klare Kondenswasser enthielt reichlichen gelben Bodensatz. Der andere, typische Stamm (No. 18) entwickelte

sich ziemlich gut. Die 3—5 mm breite, glatte, schleimige, glänzende Auflage war erst weißlich undurchsichtig, später grauweiß, durchscheinend, mit weißlichem Netzwerk, das Kondenswasser klar, mit reichlichem grauweißen flockigen Sediment. — Az. agile lieferte in allen 5 Stämmen fast völlig übereinstimmend einen 3—5 mm breiten, erst gelblich-weißen, undurchsichtigen, später weißlich durchscheinenden, schmal bleibenden, etwas unregelmäßig umrandeten Belag mit glatter glänzender Oberfläche. Das Kondenswasser wurde in der ersten Zeit ziemlich stark getrübt, später klärte es sich und enthielt ziemlich reichlichen weißlichen Bodensatz. — Az. vitreum, das bei früheren Untersuchungen auf Fleischagar nur einen dünnen. grauen, häutigen, chagrinierten, mattglänzenden Belag geliefert hatte, zeigte jetzt bei beiden Stämmen eine ziemlich gute Entwickelung. Der 5 mm breite, etwas erhabene, glattrandige, weißgraue, glänzende, durchscheinende Belag besaß in deutlicherer Ausbildung als auf dem Mannitagar die weißliche, netzartige Zeichnung. Das Kondenswasser wurde erst stark getrübt, später (nach 3 Wochen) war es klar und enthielt reichlichen weißen, schleimigen Bodensatz.

Die Stichkultur im Traubenzuckeragar[1]) zeigte meist eine recht gute Entwickelung. Vom Chroococcum-Typus wuchs nur Beijerincks alter Stamm (No. 1) sowie die eine amerikanische Kultur aus Ohio (No. 14) mäßig auf diesem Substrat. Jener entwickelte sich bis 2 cm tief im Stich und erzeugte eine kleine 2 mm breite braune Auflage, die weiterhin keine Veränderung erfuhr. Bei No. 14 fehlte die Auflage vollständig. Alle anderen europäischen Kulturen sowie der Stamm Madison B (No. 2, 3, 6—9 und 11) zeigten nach 4-tägiger Kultur im Stich eine Entwickelung bis zu 2 cm Tiefe, an der Oberfläche eine 2—3 mm breite weißliche, schleimig glänzende Auflage. Nach 10 Tagen war deren Durchmesser $^1/_2$—$^3/_4$ cm, die Form rundlich und die Auflage selbst wenig erhaben, schleimig glänzend, weißgrau durchscheinend, mitunter (bei No. 2 und 3) mit weißlichem Netzwerk durchzogen. Später wuchsen diese Auflagen noch bis zu 1 cm Durchmesser heran, die Oberfläche wurde trocken, feinrunzlig, mattglänzend, die Farbe ging in ein helles gelbliches Braun über, und durch deutlich hervortretende Kerbung des Randes kam das Bild einer zierlichen Rosette zustande. Nach 4—6 Wochen endlich erschien die Auflage dunkel braunorange und auch das Agar selbst nahm in seinem obersten Abschnitt eine braune Farbe an, die indessen nicht so deutlich hervortrat, wie dies bei der Gelatine der Fall war. Die übrigen 3 amerikanischen Stämme (No. 10, 12 und 13) lieferten weißliche, glasige, später feinrunzlige Auflagen mit weißlicher Zeichnung, deutliche Bräunung konnte nach mehrmonatlicher Entwickelung nur bei Madison A (No. 10) beobachtet werden. — Azotobacter Beijerinckii lieferte in der Sarcina-Form (No. 15) eine schwer zur Entwickelung zu bringende, dann aber innerhalb 3 Wochen bis zu $^3/_4$ cm Durchmesser heranwachsende feinrunzlige, mattglänzende, schwefelgelbe, rosettenförmige Auflage. Der im normalen Wachstum befindliche Stamm (No. 18) entwickelte sich ganz ähnlich wie die zuletzt besprochenen Chroococcum-Stämme: 2 cm im Stich und an der Oberfläche eine kreisrunde, wenig erhabene, glatte, grauweiß glänzende Auflage mit weißlicher netzartiger Zeichnung, die auch noch nach 6 Wochen ihre saftige Beschaffenheit behielt. — Die 5 Stämme vom Typus des Az. agile (No. 4, 5, 16, 17 und 19) zeigten in der ersten Zeit durch-

1) Gewöhnlicher Fleischagar + $^1/_2$ Proz. Traubenzucker.

weg und späterhin teilweise ganz das eben für Az. Beijerinckii geschilderte Verhalten. Nur die amerikanischen Vinelandii-Stämme blieben nicht feucht und schleimig, sondern wurden bei längerer Aufbewahrung an der Oberfläche trocken, feinrunzlig, mattglänzend; am ausgeprägtesten war dies bei Vinelandii von Ohio (No. 17) der Fall, ganz in Uebereinstimmung mit dem Verhalten auf Mannitagar. — Az. vitreum zeigte nach 4 Tagen ebenfalls im Stich eine Entwickelung bis in 2 cm Tiefe, die oberflächliche Auflage war zu dieser Zeit 4 mm breit, gewölbt, kreisrund, weißlich, undurchsichtig, schleimig-glänzend. Nach 3 Wochen hatte sie eine Breite von $^3/_4$ cm erreicht; das kreisrund scharf abgegrenzte Zentrum war etwas eingesunken und hatte eine schwach gelbliche Färbung angenommen, umgeben war es von einem weißen Ring, dem eine breite graue Randpartie folgte. Nach 6 Wochen war die Glaswand erreicht und das ganze Agar bedeckt von einer grauweiß glänzenden, mit gelblich weißer Zeichnung durchzogenen Auflage.

In der Fleischgelatinestichkultur zeigten die verschiedenen Chroococcum-Stämme ein den voraufgehenden Darlegungen ganz entsprechendes Verhalten. Wieder entwickelte sich Beijerincks alter Stamm nur sehr schwach, eine Auflage fehlte ganz und im Stich wuchsen nur einzelne kleine körnige Kolonieen. Die anderen europäischen Stämme und Madison B bildeten im Stich einen weißen Faden bis zu 2 cm Tiefe, an der Oberfläche erschien eine weißliche, rundliche, zunächst schleimig glänzende Auflage, die allmählich trockener und feinrunzlig wurde, matten Glanz und Rosettenform annahm. Nach 4 Wochen war ein Durchmesser von ca. $^3/_4$ cm erreicht, die Farbe war in Braun übergegangen und die Auflagen begannen in der Mitte ein wenig einzusinken, ohne daß eine wahrnehmbare Verflüssigung eintrat. Nach 6 Wochen hatte dann auch die Gelatine selbst von oben her eine deutliche Braunfärbung angenommen. Bei den Stämmen Madison A, California, Louisiana und Ohio (No. 10, 12—14) war wiederum die Entwickelung ziemlich schwach, die Auflagen blieben klein (3—5 mm) und bildeten weißliche, mattglänzende Rosetten. — Az. Beijerinckii zeigte ebenfalls nur kümmerliches Wachstum. Stamm No. 15 lieferte nur eine sehr geringe, graue, durchscheinende Auflage, bei No. 18 war diese nach 10 Tagen 2 mm breit, rein weiß und verflüssigte die Gelatine schwach. Auch nach 6 Wochen war der Durchmesser nur bis auf 5 mm angewachsen. — Az. agile und die ihm nahestehenden Stämme wuchsen im allgemeinen etwas kräftiger im Stich (3—4 cm), die Auflage blieb überall klein (nach 10 Tagen 2 mm, nach 4 Wochen 5 mm) rundlich, flach glänzend, weißgrau, durchscheinend. Die Auflage bei Stamm No. 4 sank ausgesprochen lochförmig in die Gelatine ein. — Az. vitreum wuchs gleichfalls im Stich bis zu 3 cm Tiefe und entwickelte an der Oberfläche einen kreisrunden, weißlichen, schleimig glänzenden Belag, dessen Durchmesser sich nach einer Woche auf 3, nach 3 Wochen auf 5 und nach 6 Wochen auf 7—10 mm belief. Bereits nach 21 Tagen war die Auflage tief halbkuglig eingesunken.

In Fleischbouillon soll Az. chroococcum nach Lehmann und Neumann gar nicht wachsen; nach Gerlach und Vogel sowie Freudenreich hat die „Bouillonsterilität“ als wichtiges Merkmal für die Reinheit der Kulturen zu gelten. Diesen Angaben können wir indessen nur in beschränktem Umfange zustimmen. In den ersten Tagen nach der Impfung erscheint allerdings die Bouillon stets klar und es ist eventuell nur ein geringer feinflockiger Bodensatz zu sehen. Nach

10—12 Tagen tritt jedoch nach unseren Beobachtungen[1]) regelmäßig eine schwache, aber doch ganz deutliche Trübung auf, die dann etwa 2—3 Wochen hindurch bestehen bleibt. Wie erwähnt, konnten wir gerade aus diesen Kulturen Präparate erhalten, an denen die charakteristische Art der Bewegung aufs beste studiert werden konnte. Dauernd klar blieb die Bouillon nur bei Beijerincks altem Stamm, Stamm A und Stamm California (No. 1, 2 und 12); Bodensatz war indessen auch hier überall vorhanden. Alle übrigen Chroococcum-Stämme, insbesondere auch diejenigen von Dr. Vogel, zeigten ganz übereinstimmend das beschriebene typische Verhalten. — Für Az. Beijerinckii gilt ungefähr das Gleiche. Auch hier enthielt in den ersten Tagen die zunächst noch klare Bouillon nur wenig feinflockigen Bodensatz, später (nach 3 Wochen) war ebenfalls eine deutliche Trübung vorhanden. — Die relativ kräftigste Entwickelung in Bouillon konnten wir bei einigen Stämmen vom Typus des Az. agile konstatieren. No. 4. 16 und 19 veranlaßten nicht nur deutliche Trübung, sondern auch Ring- und Flockenbildung an der Oberfläche. Bei No. 5 war die Trübung kaum wahrzunehmen und bei No. 17 fehlte sie dauernd vollständig. Ziemlich reichlicher schleimig-flockiger Bodensatz war überall vorhanden. — Az. vitreum läßt die Bouillon stets völlig klar, am Grunde des Glases bildet sich ein reichliches zähschleimiges (nicht flockiges) Sediment.

In der Traubenzuckerbouillon[2]) traten die soeben geschilderten Eigentümlichkeiten im allgemeinen noch deutlicher hervor. Mit alleiniger Ausnahme von No. 12 (California) veranlaßten hier sämtliche Chroococcum-Stämme eine besonders nach 3 Wochen verhältnismäßig recht kräftige Trübung. — Az. Beijerinckii trübte die Traubenzuckerbouillon nicht, ließ aber dafür vereinzelte Flocken an der Oberfläche entstehen. — Bei Az. agile war in allen Fällen (auch bei No. 17) kräftige Trübung und Ringbildung zu verzeichnen. — Az. vitreum reagierte durch erhöhte Produktion des schleimigen Bodensatzes.

In der Milch entwickeln sich, wie bereits oben bemerkt wurde, sämtliche Azotobacter-Formen recht gut. Zwar schreitet die Entwickelung auch in diesem Substrate nicht sehr rasch fort, sie blieb aber in keinem einzigen Falle aus; Nachimpfungen, die auf allen anderen Nährböden so oft nötig wurden, waren hier nie erforderlich. Wie erwähnt, sind die in Milch gewachsenen Formen stets auch durch sehr intensive Färbbarkeit ausgezeichnet. Alle 4 Azotobacter-Typen stimmen darin überein, daß sie nach 10—14 Tagen beginnen die Milch aufzuhellen, und zwar ganz gleichmäßig durch die ganze Masse hindurch. Von einer Koagulierung ist nie etwas zu sehen, vielmehr besteht die Veränderung lediglich darin, daß das Aussehen der Milch immer wässeriger wird. Am weitesten ging diese Umbildung entschieden bei Az. vitreum[3]).

Auf der Kartoffel konnte Freudenreich bei Az. chroococcum kein Wachstum konstatieren. Wir fanden es bei sämtlichen europäischen Stämmen ziemlich kräftig und recht charakteristisch. In

1) Wir benutzen stets die gewöhnliche Kochsche Bouillon: $^1/_2$ kg geschabtes Rindfleisch 12 Stunden lang mit 1 l Wasser kalt digeriert, nach dem Abpressen mit 1 Proz. Pepton Witte und $^1/_2$ Proz. Kochsalz versetzt und gegen Lackmus schwach alkalinisiert.

2) Fleischbrühe + $^1/_2$ Proz. Traubenzucker.

3) Korrekturzusatz: Die 3—4 Monate alten Milchkulturen der verschiedenen Azotobacter-Typen stellen ganz gleichmäßig eine durchscheinende, lockere (nicht schleimige) Gallerte dar; jeder Flüssigkeitsrest ist verschwunden.

den ersten Tagen entstand stets ein glasiger, schwer sichtbarer Belag, der später (nach ca. 14 Tagen) schleimig und ausgesprochen schokoladenbraun wird; gleichzeitig pflegt er Runzelung, mitunter sogar ganz mesentericus-artige Faltenbildung zu zeigen. Von den amerikanischen Stämmen ist zu berichten, daß No. 11 (Madison B) auf dem angegebenen Anfangsstadium stehen blieb; No. 12 (California) lieferte eine schlecht wachsende hellbräunliche, mattglänzende, wenig ausgebreitete Auflage und No. 10, 13 und 14 (Madison A, Louisiana und Ohio) versagten vollständig. — Az. Beijerinckii lieferte schon nach 4 Tagen eine deutlich gelbliche, flache, stark glänzende Auflage, die nach 21 Tagen einen Stich ins Braungelbe erhielt (wie Vinelandii), nach 6 Wochen aber ausgesprochen hellbraun erschien. Es zeigte sich demnach auch hier jene Hinneigung zum Chroococcum-Typus, die besonders an der Mannitagarstrichkultur deutlich hervortrat. — Az. agile selbst (No. 5) konnte auf der Kartoffel nicht zur Entwickelung gebracht werden. Die ihm nahestehenden Stämme ließen zunächst einen glasigen schleimigen Belag entstehen, der weiterhin entweder so blieb (No. 4) oder eine erst weißlichgelbe, später bräunlichgelbe Farbe annahm. — Az. vitreum liefert einen geringen, schwer sichtbaren glasigen Belag, der innerhalb 6 Wochen keine weiteren Veränderungen zeigt.

Ueberblickt man die vorstehenden Mitteilungen, so wird man die von uns getroffene Gruppierung wohl im ganzen als gerechtfertigt anerkennen können. Zweifelhaft bleibt es, ob man nicht vielleicht im Hinblick auf die verschiedenen Anklänge und Uebergänge Az. Beijerinckii mit dem Chroococcum-Typus vereinigen sollte. Manches spricht dafür, anderes dagegen. Da aber, wie dargelegt wurde, schon in dem Chroococcum-Typus selbst, wie wir ihn umgrenzten, mancherlei Abweichungen und Unregelmäßigkeiten vorkommen, so erscheint es uns im Interesse möglichster Klarheit doch zweckmäßiger, wenigstens vorläufig den Beijerinckii-Typus gesondert beizubehalten.

Hierfür spricht übrigens auch das Verhalten der betreffenden Stämme im Mannit-Bodenextrakt. Die verschiedenen Chroococcum-Stämme ließen die Lösung entweder ganz klar und bildeten lediglich etwas flockigen Bodensatz (so No. 1 und 12—14), oder sie riefen eine geringe Trübung hervor und produzierten ein reichlicheres schleimiges Sediment (so No. 9—11), oder endlich, es kam außerdem zu einer deutlichen Deckenbildung, die insbesondere im Reagenzglase zu schönster Entfaltung gelangte. So verhielten sich die Stämme No. 2 und 3 sowie 6–8. — Az. Beijerinckii ist demgegenüber dadurch ausgezeichnet, daß er neben der Trübung und reichlichem flockigen Bodensatz an der Oberfläche der Lösung eigentümliche kompakte, weiße Ansammlungen entstehen läßt, die nie zu einer Haut zusammenfließen, sondern stets als scharf umgrenzte Kolonieen erhalten bleiben. Dieses eigentümliche Verhalten wurde bereits früher von Lipman näher charakterisiert, und wir haben seine Angaben in dieser Hinsicht durchaus bestätigen können. — Die Stämme vom Typus des Az. agile wuchsen in der benutzten Lösung meist nur kümmerlich. Es kam in der Regel zu keiner oder nur zu einer schwachen Trübung. Allein der eine Vinelandii-Stamm von New Jersey (No. 19) entwickelte sich auch unter diesen Bedingungen gut, überzog (auch im Erlenmeyer-Kolben) die ganze Flüssigkeit mit einer kräftigen, grauen, schleimigen Haut und verlieh der Lösung schöne Fluoreszenz. — Az. vitreum bildet lediglich in reichlicher Menge weißen zähschleimigen Bodensatz; eine Trübung ist nie wahrzunehmen.

Um auch über das Stickstoffbindungsvermögen der geprüften Stämme einige Auskünfte zu erlangen, wurden mit allen Kulturen, außer No. 5, die erst nachträglich untersucht wurde, entsprechende Versuche in Gang gebracht. Im Hinblick auf die günstigen Resultate, die Krzemieniewski[1]) bei der Verwendung einer mit humussauren Salzen versetzten Zuckerlösung erhielt, benutzten auch wir eine Lösung von folgender Zusammensetzung: 1000 ccm Bodenextrakt, 10 g Glukose, 0,5 g K_2HPO_4, 15 ccm humussaures Natron. Die Flüssigkeit wurde zu je 100 ccm in 500 ccm Erlenmeyer-Kolben mit seitlichem Ansatze verteilt, im Autoklaven sterilisiert und danach unter Benutzung von Glaskapillaren geimpft. Nach Verlauf von 6 Wochen wurden sämtliche Kolben mit je 10 ccm reiner Schwefelsäure versetzt, ca. 1,5 g Eisenstaub zugegeben (zur Reduktion etwa vorhandener Nitrite und Nitrate), die Lösung zusammen mit der Bakterienmasse vorsichtig eingeimpft und dann nach Kjeldahl verbrannt. Die erlangten Resultate sind in der folgenden Tabelle wiedergegeben. Die Stickstoffbindung war demnach (trotzdem in einigen Fällen, speziell bei No. 6 und 19, sogar eine schöne Kahmhaut zur Entwickelung kam) nicht sehr bedeutend. Speziell von unseren Leipziger Stämmen (No. 20 und 21) wurde nicht mehr Stickstoff fixiert, als bei früheren Versuchen im Mannit-Bodenextrakt[2]). Die Anwesenheit von Dematium pullulans erwies sich entschieden als vorteilhaft. Eine merkwürdige und unerklärliche Tatsache bleibt es aber, daß alle aus Amerika zu uns gelangten Stämme ohne Ausnahme völlig versagten. Das ist um so merkwürdiger, als nicht nur Lipman selbst mit diesen Stämmen zum Teil sehr beträchtliche Stickstoffgewinne erhielt, sondern namentlich auch deshalb, weil die über Dänemark zu uns gekommenen Nachzuchten seiner Stämme sich verhältnismäßig als recht kräftig erwiesen. Andererseits assimilierten Beijerincks Stämme bei unseren Versuchen in der Glukoselösung recht gut, während Beijerinck[3]) selbst nur in Lösungen mit Malat, Laktat, Acetat oder Propionat positive Resultate erhalten konnte.

Unsere Befunde entsprechen hier denen, über die Gerlach und Vogel, Freudenreich, A. Koch, Heinze, Krzemieniewski u. a. berichteten, insbesondere ist mit den Angaben des zuletzt genannten Autors volle Uebereinstimmung deshalb vorhanden, weil auch er mit Beijerincks Chroococcum-Kulturen in der Glukose-Humat-Lösung Stickstoffbindung erhielt. Der a. a. O. geäußerten Vermutung Beijerincks, die Bedeutung der Begleitbakterien in den mit Kohlenhydraten in Gang gebrachten Anhäufungskulturen sei vielleicht darin gelegen, daß diese Formen durch Säurebildung für Azotobacter geeignete Kohlenstoffquellen erschlössen, können wir demnach nicht beipflichten. Eine zufriedenstellende Erklärung für diese zwischen Beijerincks Beobachtungen und den Ermittelungen anderer Autoren bestehende Differenz zu geben, ist allerdings vorläufig nicht möglich. Und die oben regi-

1) Krzemieniewski, Bull. de l'Acad. des scienc. de Cracovie. Classe des sc. mathém. et natur. 1907. p. 746.

2) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XIV. p. 594; Bd. XX. p. 799. Die Erklärung dafür, daß in diesen Versuchen das humussaure Natron nicht so ausgesprochen fördernd wirkte, wie in denjenigen Krzemieniewskis, dürfte wohl darin gegeben sein, daß sich der genannte Autor das benutzte Präparat selbst aus Erde darstellte, während wir von Merck bezogene Huminsäure verwendeten.

3) Beijerinck, Verslagen d. wis- en natuurk. Afd. K. Akad. van wetenschappen. Amsterdam. 30. Mei 1908.

Stickstoffbindung durch Azotobacter-Reinkulturen in Glukose-Huminat-Bodenextrakt.

Bezeichnung der Kultur	Laufende No.	N insgesamt mg			Zunahme gegen steril
		a	b	Mittel	
Ungeimpft	—	4,41	4,34	4,38	—
Az. chroococcum, alter Stamm Beijerinck	1	7,70	6,79	7,15	2,77
„ „ Stamm A „	2	verl.	8,05	8,05	3,67
„ „ „ B „	3	7,28	7,28	7,28	2,90
„ „ „ 1906, Vogel	6	7,00	7,49	7,25	2,87
„ „ „ 1907, „	7	6,86	7,49	7,18	2,80
„ „ „ 1908, „	8	7,00	6,58	6,79	2,41
„ „ Kopenhagen	9	5,81	7,56	6,69	2,31
„ „ Stamm Madison A	10	4,34	4,34	4,34	—
„ „ „ Madison B	11	4,34	verl.	4,34	—
„ „ „ California	12	verl.	4,34	4,34	—
„ „ „ Louisiana	13	4,34	4,41	4,38	—
„ „ „ Ohio	14	4,41	4,34	4,38	—
„ Beijerinckii, Lipman	15	4,34	4,41	4,38	—
„ „ Lipman-Christensen	18	7,91	8,75	8,33	3,95
„ chroococcum, var. M. Beijerinck	4	4,41	4,48[1])	4,45	0,07
„ Vinelandii, New Jersey Lipman	16	4,41	4,34	4,38	—
„ „ Ohio, Lipman	17	4,34	4,41	4,38	—
„ „ New Jersey, Lipman-Christ.	19	7,98	8,47	8,23	3,85
„ vitreum, Stamm Leipzig 1904	20	4,76	4,97	4,87	0,49
„ „ „ „ 1907	21	4,90	4,97	4,94	0,56
„ „ 1907 + Dematium	—	5,25	5,53	5,39	1,01

strierten sonderbaren Abweichungen, die an den von uns geprüften Azotobacter-Kulturen in morphologischer wie physiologischer Hinsicht zuweilen plötzlich hervortraten, ohne daß irgend ein äußerer Grund dafür erkennbar gewesen wäre, berechtigen nicht gerade zu der Hoffnung, in absehbarer Zeit in diese verwickelten Verhältnisse einen klaren Einblick zu erlangen. Sicherlich mögen Degenerationserscheinungen infolge lange fortgesetzter Kultur oder die nicht zusagende Beschaffenheit des in dem betreffenden Falle verwendeten Nährsubstrates hierbei mitsprechen [2]), aber ein zureichender Grund ist in diesen Umständen sicher nicht zu erblicken; es bleibt für tiefer eindringende Untersuchungen noch ein weites Feld offen.

Aërobe, sporenbildende Stickstoffassimilanten.

Bei der Isolierung von Knöllchenbakterien begegneten uns wiederholt (besonders bei Vicia villosa) auf den betreffenden Gußkulturen Kolonieen, die makroskopisch wie mikroskopisch sehr denjenigen des Azotobacter ähnelten, auch das Ausstrichpräparat lieferte Formen, wie sie jener Gruppe eigentümlich sind. In der Tat soll nach Beijerincks[3]) Beobachtungen Azotobacter besonders in der Nähe der Leguminosenwurzeln sehr zahlreich im Boden vorhanden sein. Aber das, was uns zunächst als Azotobacter erschien, erwies sich bei näherem Zusehen als eine sporenbildende Art, die in mancher Hinsicht dem kürzlich[4]) beschriebenen, aus indischer Reisfelderde stammenden Bac. mala-

1) Schimmelinfektion.

2) Sehr beachtenswerte Angaben über den mitunter recht überraschenden Einfluß wechselnder Wachstumsbedingungen finden sich gleichfalls in der soeben zitierten Mitteilung Beijerincks.

3) l. c. p. 53.

4) Löhnis und Pillai, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XIX. p. 87.

barensis ähnelt, aber immerhin so deutliche Abweichungen zeigt, daß sie wohl als besondere Art gelten kann. Wir haben sie Bac. danicus benannt. Beijerinck hat gelegentlich einmal bei einem frisch isolierten Mesentericus-Stamm deutliche Stickstoffbindung konstatiert. Bac. malabarensis zeigte gleichfalls in mancher Richtung Mesentericus-Charakter. Aehnlich verhält es sich mit Bac. danicus. Wie aus Fig. 8 und 9 der beigegebenen Tafel zu ersehen ist, nimmt er nach dem Verhalten auf der Gelatineplatte eine Zwischenstellung zwischen Subtilis und Mesentericus ein. Die Kolonieen auf Mannitagar ähneln denen des Azotobacter weit mehr, als es bei Bac. malabarensis der Fall war. Die eigenartigen Rüben- oder Birnenformen, die wir früher bei stickstofffixierenden Stämmen von Malabarensis und Oxalaticus beobachteten, und die, wie oben mitgeteilt wurde, auch in Azotobacter-Kulturen vorkommen, traten bei Bac. danicus gleichfalls deutlich in die Erscheinung (Fig. 3). Das in Mannitlösung gewachsene Material (Fig. 2) ähnelte (ebenso wie bei Malabarensis) Azotobacter außerordentlich. Besonders sind die großen Streptokokken sehr auffallend. Ständig vermißt wurden bisher bei diesen sporenbildenden Stickstoffassimilanten nur die für Azotobacter charakteristischen Sarcina-Formen. Alle anderen Formen treten hier wie dort auf. Wie in unserem voraufgehenden Untersuchungsbericht dargelegt wurde, zeigt überhaupt Azotobacter in verschiedener Hinsicht Eigenschaften, wie sie in der Mesentericus-Gruppe zu finden sind.

Ehe wir die ausführliche Beschreibung der neuen Art geben, mögen zunächst noch die analytischen Belege für die stickstofffixierende Fähigkeit des Bac. danicus hier Platz finden. Die Versuche wurden teils in 1-proz. Mannit-Bodenextrakt, teils in der oben näher angegebenen Glukose-Humat-Lösung durchgeführt. Die erlangten Zahlen waren folgende:

	Mannit-Bodenextrakt			Glukose-Humat-Lösung	
steril	2,80	2,94	steril	4,41	4,34
geimpft	3,85	3,99	geimpft	4,76	4,69

Speziell in Mannit-Bodenextrakt war also die Assimilation recht deutlich [1]), reichlich 1 mg Stickstoff wurde gebunden. Malabarensis hatte seinerzeit 1,5—2,6, Oxalaticus 0,5 mg fixiert [2]), während Beijerincks Mesentericus-Stamm pro Gramm Glukose 0,66 mg Stickstoff assimilierte [3]).

1) Korrekturzusatz: In dem soeben erschienenen XVI. Bande von Kochs Jahresberichten äußert Vogel als Referent meiner ersten, 1905 hier veröffentlichten Mitteilung über stickstofffixierende Bakterien (l. c. p. 357 f.) seine Bedenken, ob die in 100 ccm Lösung nachgewiesenen relativ kleinen Stickstoffgewinne wirklich außerhalb der Fehlergrenzen liegen. Er weist darauf hin, daß dort die Stickstoffzunahmen in einem Falle zwischen 0,7 und 1,8 mg schwankten, die Differenz zwischen den Parallelen also größer war als die Mindestzunahme, und er meint dementsprechend, daß die von mir für die analytischen Fehler angenommene Höchstzahl von 0,2 mg zu niedrig angesetzt sei. Es ist jedoch entschieden nicht richtig, jene auf biologische Ursachen zurückzuführende Schwankungen der Stickstoffzunahmen als Maßstab für die Größe der analytischen Fehler benutzen zu wollen. Daß sich diese bei meinen Arbeiten in der Tat innerhalb der von mir angegebenen Grenzen halten, lehrt von neuem ein Blick auf die in der voraufgehenden Tabelle mitgeteilten Zahlen, wie sie sich für die wider Erwarten zahlreichen sterilen Kolben bei den Azotobacter-Versuchen herausstellten. Sicherlich bekommt man imponierendere Zahlen, wenn man die Kulturen nach Vogels Vorschlag in je 1000 ccm Lösung durchführt. Aber zur glatten Erledigung von größeren Versuchsreihen in diesem Stile sind Mittel und Arbeitskräfte erforderlich, wie sie dem hiesigen Laboratorium wenigstens nicht zur Verfügung stehen.

2) l. c. p. 94.

3) Beijerinck und van Delden, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. IX. p. 22.

Bac. danicus n. sp.

Form und Größe: Sehr variabel. Von Mannitlösung große Diplo- und Streptokokken (2—3 μ breit, 2—4—8 μ lang), teils gerade schlanke Stäbchen (1 μ breit, 3—5 μ lang), mitunter lange Fäden. Von Mannitagar fast lauter große Doppelstäbchen, deutlich granuliert, beginnen nach 5 Tagen sich einseitig zuzuspitzen (wie Oxalaticus); nach 10 Tagen sind fast nur Sporen vorhanden. Von Fleischagar wenig dicke, kokkenartige Formen in Ketten, meist Fäden (bis 30 μ und länger), deutlich granuliert, oft spitz endend, schon nach 5 Tagen viel Sporen, zuweilen clostridiumartige Formen. Gelatine und Traubenzuckerbouillon lieferten fast dasselbe Material wie Fleischagar. Von Kartoffel nach 5 Tagen zahlreiche große Sporen und kurze, gradabgeschnittene Stäbchen.

Färbbarkeit: Von Mannitlösung (mit Fuchsin) sehr ungleichmäßig; namentlich in den streptokokkenartigen Verbänden wechseln dunkle und helle Stellen unregelmäßig miteinander ab. Nach Gram: Nur Langstäbchenformen vom Fleischagar positiv, alles andere (Fäden, Streptokokken etc.), namentlich von Mannitagar und Mannitlösung negativ.

Beweglichkeit: Vorhanden, aber nur gering. Von Fleischagar und Traubenzuckerbouillon konnten gar keine beweglichen Individuen erhalten werden, von 2-tägiger Mannitagarkultur (aus dem Kondenswasser) vereinzelte Individuen langsam, schlangenartig drehend beweglich (wie Oxalaticus). Begeißelung peritrich.

Sporenbildung: vorhanden. Sporen kugelig bis oval.

Mannitagarplatte (5 Tage bei 20°): Makroskopisch: Oberflächenkolonie 2—4 mm (auf dünnbesäten Platten nach 10 Tagen $^1/_2$—$^3/_4$ cm), kreisrund, wenig erhaben, stark glänzend, weißgrau, wenig durchscheinend. Im Agar $^1/_2$—1 mm kreisrund oder linsenförmig, weißlich, undurchsichtig. Bodenkolonie kreisrund, weißgrau, Zentrum wenig, Rand stärker durchscheinend. Mikroskopisch: Oberflächenkolonie kreisrund, Rand feingekräuselt (entsprechend dem Vordringen der haarartigen Granulierung), Zentrum schwarzgrau, nach dem Rande zu heller werdend, haarartige, radial verlaufende Granulierung. Im Agar Zentrum schwarzgrau, undurchsichtig, Rand deutlich granuliert, dadurch etwas unregelmäßig (wie Azotobacter). Bodenkolonie wie Oberflächenkolonie, doch zarter, besonders am Rande wird die haarartige Struktur sehr deutlich.

Fleischgelatineplatte (2—3 Tage bei 20°): Makroskopisch: Oberflächenkolonie 2—4 mm, kreisrunde, flache, glänzende, grauweiße Scheiben in klare Verflüssigungsschalen eingesunken, Zentrum weiß, nach dem Rande zu (in Zonen) durchscheinender. In der Gelatine ca. 1 mm breite, weißliche Scheibchen. Nach 14 Tagen erscheinen die Oberflächenkolonieen als lockere, flockige, teilweise zerfallene Häutchen in den 2 cm breiten klaren Verflüssigungsschalen (mycoidesähnlich). Mikroskopisch: Oberflächenkolonieen teils subtilis-, teils mesentericusartig (vergl. Photogramme, No. 8 und 9). In der Gelatine schwarzgrau, undurchsichtig, schmaler durchscheinender Rand mit haarartigem Saum.

Mannitagarstrich: Gutes Wachstum. Schon nach einem Tage deutlich sichtbar. Nach 2 Tagen breiter Belag, grauweiß, glasig glänzend. Später ausgebreitet, ziemlich flach, glänzend, durchscheinend, dickere Partieen hell-rötlichgrau.

Fleischagarstrich: Sehr reichliche Entwickelung. Nach 4 Tagen grauweißer, glänzender, wenig erhabener, breiter Belag mit wenig welligem Rande; Kondenswasser klar, reichlicher weißlicher Bodensatz. Nach 10 Tagen erhält die Auflage einen Stich ins Gelbliche. Nach 4 Wochen ist ein feines gelbliches Netzwerk auf grauem Grunde sichtbar.

Traubenzuckeragarstich: Nach 4 Tagen ausgebreiteter, glänzender, glattrandiger Belag, weißgrau mit einem Stich ins Gelbliche. Sehr geringe Entwickelung im Stich, nur ca. $^3/_4$ cm tief. Nach 10 Tagen hat die Auflage die gesamte Oberfläche des Agars überzogen. Nach 6 Wochen sieht man ein unregelmäßiges gelblichweißes Netzwerk auf grauem, mattglänzendem Grunde.

Fleischgelatinestich: Sehr gute Entwickelung. Nach 4 Tagen trichterförmige Verflüssigung, Inhalt stark getrübt mit weißlichen Flocken, obenauf lockeres, weißgraues Häutchen. Im Stich wenige Körnchen. Nach 10 Tagen oberes Drittel der Gelatine zylindrisch verflüssigt, keine Haut, starke, weißliche Trübung. Nach 21 Tagen ist die Gelatine zur Hälfte verflüssigt, die Trübung nimmt ab. Nach 6 Wochen ist $^2/_3$ der Gelatine gelöst, die verflüssigte Gelatine ziemlich klar und ein dicker, weißlicher Bodensatz vorhanden.

Bouillon: Nach 4 Tagen sehr geringe Entwickelung. Bouillon ist klar, sehr wenig schleimig-flockiges Sediment. Nach 10 Tagen unverändert. Nach 21 Tagen schwache, flockige Trübung, der Bodensatz wird reichlicher. Nach 6 Wochen ist die Trübung noch vorhanden, der Absatz am Grunde reichlich, flockig-schleimig.

Traubenzuckerbouillon: Schon nach 4 Tagen gute Entwickelung, schwache

Trübung. Ansatz zur Ringbildung, reichliches schleimig-flockiges Sediment. Weiterhin ähnlich wie in Bouillon, doch kräftiger.

Milch: Nach einer Woche von oben her 2 mm aufgehellt, keine Koagulierung. Nach 2 Wochen 1 cm helle Serumschicht, darunter lockeres Koagulum. Nach 3 Wochen $^{2}/_{3}$ aufgehellt, unten noch grobflockiges Gerinnsel. Nach 6 Wochen ist die Aufhellung fast vollständig.

Kartoffel: Nach 4 Tagen reichliche, gelblichweiße, typisch Mesentericus-artige, stark gefaltete Auflage. Nach 7 Tagen gleichmäßig schleimig glänzend. Nach 10 Tagen sehr üppige grauweiße, schleimig glänzende Masse, die später die ganze Kartoffel überzieht.

Leipzig, August 1908.

Tafelerklärung.

Fig. 1—4 800-fach, Fig. 5—9 18-fach vergrößert.

Fig. 1. Bac. danicus von Fleischgelatine, 5 Tage bei 20°. Kurz- und Langstäbchen, Fäden und einzelne Sporen.

Fig. 2. Bac. danicus aus Mannitlösung, 20 Tage bei 20°. Stäbchen und streptokokkenartige Verbände.

Fig. 3. Bac. danicus von Mannitagar, 5 Tage bei 20°. Rübenformen.

Fig. 4. Bac. danicus von Kartoffel. Kurzstäbchen und Sporen.

Fig. 5—7. Bac. danicus. An der Oberfläche, im Substrat und am Boden gelegene, 5 Tage alte, bei 20° gewachsene Kolonieen von Mannitagar.

Fig. 8 und 9. Bac. danicus. Kolonieen auf Fleischgelatine, 5 Tage bei 20°. Subtilis- bezw. Mesentericus-Typus.

Ueber die Zersetzung des Kalkstickstoffs. III.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des Landwirtschaftlichen Instituts der Universität Leipzig.]

Von Dr. **F. Löhnis** (Ref.) und **R. Moll.**

In meiner ersten Mitteilung über die Zersetzung des Kalkstickstoffs[1]) hatte ich in den einleitenden Bemerkungen betont, daß ich eine eingehende chemische Behandlung der Frage als außerhalb meines Arbeitsgebietes liegend erachtete, und mich darauf beschränkt, auf die bereits in der sterilen wässerigen Lösung stattfindende allmähliche Umwandlung des Calciumcyanamids in das einbasische Salz $CaH_2(CN_2)_2$ und dessen nachfolgenden Zerfall in Kalk und Cyanamid bezw. Dicyandiamid hinzuweisen. Die verschiedenen Analogieen zwischen der Ammoniakbildung aus Kalkstickstoff und aus Harnstoff, wie sie bei meinen Untersuchungen unverkennbar hervortraten, führten mich dann allerdings auch schon dazu, im Harnstoff ein intermediäres Spaltungsprodukt beim Abbau des Cyanamids im Boden zu vermuten, um so mehr, als auch unter der Einwirkung verdünnter Säure die gleiche Umwandlung von statten geht. Meine Hoffnung, daß seitens der Agrikulturchemiker die gewiß nicht uninteressante Frage, welche Spaltungsprodukte nacheinander beim Kalkstickstoffabbau auftreten, eine gründliche Bearbeitung erfahren würde, blieb leider bisher unerfüllt. Aber nicht nur das; statt weiterer Aufklärung wurden gerade von agrikulturchemischer Seite[2]) eine ganze Anzahl unrichtiger Behauptungen aufgestellt, die das an sich schon nicht ganz einfache Problem unnötig verwirrten. In meiner zweiten, in

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XIV. 1905. p. 87.

2) Vergl. insbesondere die Arbeit von Kappen, Fühlings landw. Zeitung. 1907. p. 122.



Fig. 1.

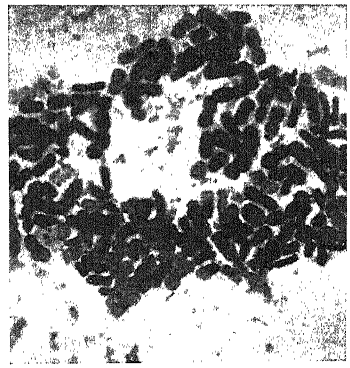


Fig. 2.

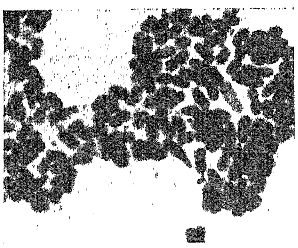


Fig. 3.

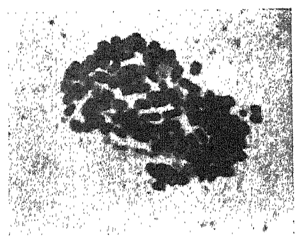


Fig. 4.

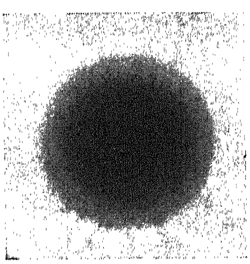


Fig. 5.

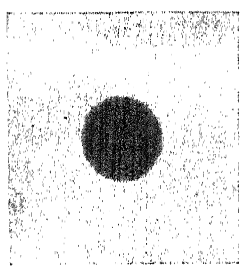


Fig. 6.

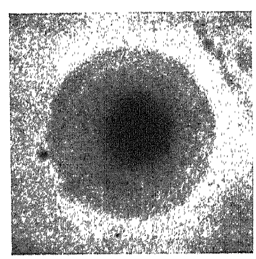


Fig. 7.

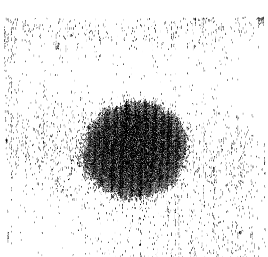


Fig. 8.

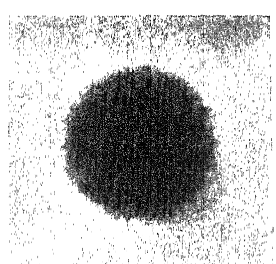


Fig. 9.

W. Kuntze phot.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Gemeinschaft mit Dr. Sabaschnikoff veröffentlichten Arbeit[1]) bemühte ich mich, die hauptsächlichsten jener Fehler zu eliminieren und die Frage weiterer Klärung zuzuführen. In einer kurz danach erschienenen Abhandlung „Ueber den Einfluß des Sterilisierens auf Lösungen von Kalkstickstoff" macht dagegen Kappen[2]) den Versuch, zu beweisen, daß meine erste Mitteilung überhaupt kein Beitrag zur Frage nach der Kalkstickstoffzersetzung sei, und er behauptet demgemäß, daß die seinerzeit von mir behandelten Einzelfragen in ihrem ganzen Umfange noch heute ihrer Erledigung harren. In einem Nachwort[3]) zu dieser Abhandlung bemerkt er, daß auch meine neuen, in Gemeinschaft mit Sabaschnikoff unternommenen Untersuchungen nichts an der Sache ändern könnten, und meine Kritik seiner im Frühjahr 1907 publizierten Angaben sei in den meisten Stücken unzutreffend.

Obgleich es nun keine Schwierigkeiten darböte, diese Behauptungen Kappens schon an der Hand des bisher vorliegenden Materials, insbesondere unter Benutzung des von ihm selbst Beigebrachten gründlich zu widerlegen, so entschloß ich mich doch, da ich kein Freund lediglich negierender Kritik bin, trotz reichlicher anderer Arbeit die ganze Frage nochmals einer eingehenden experimentellen Prüfung, und zwar diesmal auch nach der chemischen Seite hin, zu unterziehen. Das aber ließ sich um so eher ermöglichen, als mir ein glücklicher Zufall in Herrn Moll einen Chemiker ins Laboratorium führte, der sich aus freien Stücken gern der Mühe unterzog, allerhand wissenswertes Material aus der chemischen Literatur zusammenzutragen und mich bei den nachstehend besprochenen Untersuchungen eifrig zu unterstützen.

Ehe ich mich der Besprechung der von uns erlangten Resultate zuwende, dürfte es zweckmäßig sein, zunächst einmal die hier in Betracht kommenden Tatsachen und Hypothesen klar herauszustellen. Denn das Durcheinander der heute umlaufenden Meinungen ist bereits derart, daß sich namentlich unter den Agrikulturbakteriologen nicht so leicht jemand finden dürfte, der geneigt wäre, diese Frage energisch mit in Angriff zu nehmen. Zweifellos handelt es sich jedoch hier um einen theoretisch wie praktisch gleich wichtigen Gegenstand der Forschung. Wenn es aber nach Kappens Darlegung manchem so scheinen möchte, als wenn uns die erprobte bakteriologische Methodik in diesem Falle im Stiche ließe, so wird sich doch aus meinen weiteren Ausführungen ergeben, daß die Sache keineswegs so schlimm ist. Es wäre nur eben auch hier zu wünschen gewesen, wenn der Agrikulturchemiker lieber sein Arbeitsgebiet, die chemische Seite des Gegenstandes, einer gründlichen Bearbeitung unterzogen hätte, statt den Bakteriologen Ratschläge erteilen zu wollen, die nicht nur gänzlich überflüssig, sondern zum Teil sogar direkt irreführend sind.

Die bisher vorliegenden Tatsachen und Hypothesen.

Was zunächst die chemische Natur der im Kalkstickstoff und im Stickstoffkalk enthaltenen Stickstoffverbindung anlangt, so kann wohl heute kein Zweifel mehr darüber bestehen, daß es sich hier um das Calciumcyanamid (N≡C—N=Ca) handelt. Dahin ging von allem

1) l. c. Bd. XX. 1908. p. 322.
2) l. c. Bd. XX. 1908. p. 704.
3) l. c. p. 715.

Anfang an die Meinung A. Franks[1]), die sich ihrerseits gründete auf die älteren Arbeiten von Drechsel[2]) und G. Meyer[3]), aus denen hervorging, daß wohl das Cyanamid ($N \equiv C - N = H_2$), nicht aber das isomere Carbodiimid ($H - N = C = N - H$) existenzfähig ist. Immendorff[4]) sprach sich allerdings in seiner ersten Arbeit über diesen Gegenstand dahin aus, daß es sich im Kalkstickstoff nicht um Calciumcyanamid, sondern um Calciumcarbodiimid handele, und in der Tat hatte diese Ansicht vor allem deshalb viel für sich, weil, wie ich einige Zeit vorher gezeigt hatte, die Bakterien den Stickstoff jener Substanz verhältnismäßig rasch in Ammonkarbonat überführen, und es natürlich sehr nahe lag, eher an eine leichte Spaltbarkeit der symmetrischen Verbindung $C\begin{smallmatrix} \diagup N \diagdown \\ \diagdown N \diagup \end{smallmatrix}Ca$, als an die des asymmetrischen Körpers $C\begin{smallmatrix} \diagup N \\ \diagdown N = Ca \end{smallmatrix}$ zu denken. Trotzdem ist aber diese Annahme nicht richtig; sie wird auch von Immendorff selbst nicht mehr vertreten. Die wirksame Stickstoffverbindung ist, wie gesagt, das Calciumcyanamid, dem in beiden Düngern noch reichliche Mengen Calciumoxyd beigegeben sind. Vom Kalkstickstoff[5]) unterscheidet sich der Stickstoffkalk[6]) durch seinen Chlorcalciumgehalt (ca. 10 Proz.). Wie in meiner zweiten Mitteilung gezeigt wurde, ändert dieser Zusatz so gut wie nichts an dem Verlauf des Stickstoffabbaues.

Bei der Auflösung des Calciumcyanamids in Wasser beginnt, wie schon Drechsel festgestellt hat, sofort eine Umwandlung, die zur Bildung der basischen Verbindungen $N_2C_2N_2H_2Ca$ und $NCN(CaOH)_2$ (unter gleichzeitigem Freiwerden von Cyanamid) führt. In den verdünnten Kalkstickstofflösungen, wie sie bei den Umsetzungsversuchen sowie im Boden in Frage kommen, scheint lediglich die zuerst genannte Verbindung eine Rolle zu spielen. Uebrigens ist das Calciumcyanamid, worauf besonders Wagner[7]) aufmerksam gemacht hat, relativ schwer löslich. Diese Tatsache verlangt auch bei Umsetzungsversuchen, namentlich sobald Filtrationen (speziell durch Porzellan) in Frage kommen, volle Beachtung.

Beim Aufbewahren der die Verbindung $CaH_2(CN_2)_2$ enthaltenden Lösung findet, wie bereits erwähnt wurde, die Aufspaltung in Cyanamid und Calciumhydroxyd statt. Beschleunigt wird diese Zersetzung durch Wärme[8]); bei Gegenwart von Erde wirken Absorptionsvorgänge fördernd ein[9]), oder richtiger wohl Vorgänge vorwiegend adsorptiver Art, sofern

1) Frank, A., Die Nutzbarmachung des freien Stickstoffs der Luft für Landwirtschaft und Industrie. (Vortrag, geh. a. d. V. Kongreß f. angew. Chemie. Berlin 1903.)

2) Drechsel, Journ. f. prakt. Chemie (2). Bd. XI. p. 209. 284. 307. Bd. XXI. p. 80.

3) Meyer, G., Journal f. prakt. Chemie (2). Bd. XVIII. p. 419.

4) Immendorff, Fühlings landw. Zeitung. 1905. p. 791.

5) Hergestellt nach dem von A. Frank, Caro, Rothe, Pfleger und Erlwein ausgearbeiteten Verfahren der Cyanidgesellschaft in Berlin.

6) Nach dem Polzeniuszschen Verfahren der Gesellschaft für Stickstoffdünger in Westeregeln.

7) Wagner, Dorsch, Hals und Popp, Landw. Vers.-Stat. Bd. LXVI. 1907. p. 293: 10 g Kalkstickstoff in 1 Liter Wasser, nach halbstündigem Schütteln filtriert, gaben 83 Teile N im Filtrat, 1 g Kalkstickstoff auf dem Filter mit 250 ccm Wasser ausgewaschen nur 62 Teile.

8) Immendorff, l. c. p. 791.

9) Kappen, Landw. Vers.-Stat. Bd. LXVIII. 1908. p. 310.

die Ermittelungen Kappens, daß nämlich hierbei kein äquivalenter Basenaustausch stattfindet, richtig sind [1]).

Das in der Lösung vorhandene Cyanamid soll sich nun langsamer beim Aufbewahren, rascher beim Erwärmen, unter dem Einflusse der Kohlensäure oder der Humussäure polymerisieren zu Dicyandiamid [2]). Die von mehreren deutschen Agrikulturchemikern ausgeführten Düngungsversuche [3]) ergaben übereinstimmend, daß die letztgenannte Substanz für Düngungszwecke unbrauchbar ist, während im Gegensatz hierzu Perotti und Ulpiani die düngende Wirkung des Kalkstickstoffs gerade auf die primäre Bildung dieser Substanz zurückführten. Meine in Gemeinschaft mit Sabaschnikoff ausgeführten Untersuchungen zeigten von neuem, daß allerdings das Dicyandiamid so gut wie ganz unzersetzlich ist [4]), andererseits aber stellte sich heraus, daß die beim Eindampfen einer Kalkstickstofflösung resultierende Substanz, mit der auch Perotti gearbeitet hat, besonders leicht der Zersetzung unterliegt, demnach offenbar kein Dicyandiamid sein kann. Ich sprach die Vermutung aus, daß es sich hier möglicherweise um eine isomere Verbindung handele, vorausgesetzt, daß die Mitteilung Perottis [5]) richtig sei, derzufolge bei einer genauen physikalisch-chemischen Prüfung die fragliche Substanz die für Dicyandiamid charakteristischen Eigenschaften gezeigt habe. Wie hier schon vorgreifend bemerkt sein mag, hat es sich indessen bei unseren weiterhin näher zu besprechenden Untersuchungen gezeigt, daß dies nicht der Fall ist. Auch alle unsere sonstigen Beobachtungen sprachen entschieden dafür, daß die so allgemein behauptete, relativ rasche Polymerisierung des Cyanamids in Dicyandiamid zum mindesten für die verdünnten Lösungen, wie sie für die Umsetzungsversuche sowie im Boden in Frage kommen, nicht zutreffend sein kann. Kappen [6]) hat daraufhin die Richtigkeit der früheren Anschauung von neuem zu verfechten gesucht und sich auch bemüht, einige Beweise für seine Meinung beizubringen. Wir werden uns mit seinen Veröffentlichungen sogleich näher zu beschäftigen haben. Bis dahin mag auch die Kritik seiner Behauptung, derzufolge meine bisherigen Untersuchungen über die Kalkstickstoffzersetzung überhaupt keine Beiträge zur Lösung dieser Frage gewesen wären, zurückgestellt sein.

Das Dicyandiamid kann also für die Ammoniakbildung aus Kalkstickstoff nicht in Frage kommen. Vom Cyanamid dagegen war es bereits seit Drechsels Arbeiten bekannt, daß es verhältnismäßig leicht (speziell durch Behandlung mit Wasser unter hohem Druck) eine Umwandlung in Harnstoff und weiter in Ammonkarbonat erfahren kann. Die Kenntnis dieser Reaktion war auch die Veranlassung, den Kalkstickstoff als Stickstoffdünger zu erproben.

1) Diese unterstützende Wirkung der Erde tritt deutlich dann hervor, wenn man in dem einen Falle die Kalkstickstofflösung mit wenig, im anderen mit viel (ca. 50 Proz.) Erde impft. In dem ersten Kolben bedeckt sich die Lösung mit einer Haut von Kalkschüppchen, die im zweiten Kolben vollständig fehlt.

2) Immendorff, l. c. p. 791, 792.

3) Zusammengestellt in Immendorff und Kempski, Calciumcyanamid als Düngemittel.

4) Diese Prüfungen wurden nur mit verdünnten Dicyandiamidlösungen ausgeführt. Die später bekanntgegebene Meinung Perottis (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XX. p. 514), daß konzentriertere Lösungen sich anders verhalten, wird auf einer der folgenden Seiten noch zu erörtern sein.

5) Perotti, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XVIII. p. 50.

6) Kappen, Fühlings landw. Zeitung. 1908. p. 279. — Landw. Vers.-Stat. Bd. LXVIII. 1908. p. 301.

Wird Kalkstickstoff in feuchter Luft aufbewahrt, so treten bekanntlich mitunter sehr bedeutende Stickstoffverluste ein, hervorgerufen durch Verflüchtigung des Ammoniaks, das durch die Wirkung der beim Entstehen des Calciumhydroxyds freiwerdenden Wärme, sowie durch die chemische Einwirkung des Kalkes gebildet und ausgetrieben wird[1]).

In der Kalkstickstofflösung und ebenso im Boden spielt indessen diese Selbstzersetzung keine irgend in Betracht kommende Rolle. Eine einigermaßen erhebliche Ammoniakbildung findet in diesen Fällen nur dann statt, wenn zu dieser Umsetzung befähigte Bakterien in hinreichender Menge vorhanden sind. Dieses in meiner ersten Mitteilung über die Kalkstickstoffzersetzung veröffentlichte Resultat fand in allen weiteren Publikationen[2]), die sich zum Teil auf gleichzeitig mit den meinigen ausgeführte Untersuchungen stützten, seine Bestätigung, und die von Stutzer noch Ende 1906 veröffentlichte Ansicht, daß es sich bei der Kalkstickstoffzersetzung um einen „einfachen chemischen Prozeß" handelt, hat inzwischen auch die erforderliche Aenderung erfahren[3]).

Unsere weiteren Untersuchungen ließen dann aber auch deutlich hervortreten, welch großen Einfluß die absorbierenden Bodenbestandteile sowie die Kohlensäure auf die der Bakterientätigkeit voraufgehenden Umsetzungen ausüben, und dabei stellte sich denn auch immer klarer heraus, daß jene Meinung von der Förderung der Dicyandiamidbildung durch die Kohlensäure entschieden unrichtig sein mußte. In dieser Hinsicht lieferten auch einige von Kappen in seiner ersten Arbeit mitgeteilte Befunde eine Stütze für unsere, der seinigen entgegengesetzte Ansicht. Denn auch bei seinen Versuchen hatte die Kohlensäure sehr förderlich auf die Ammoniakbildung eingewirkt, was sie naturgemäß nicht hätte tun können, wenn sie, gemäß jener, auch von Kappen verfochtenen Hypothese das Cyanamid rasch in Dicyandiamid übergeführt hätte. Wie jene fördernden Einwirkungen zu erklären sind, blieb noch näher zu untersuchen. Kappens kürzlich veröffentlichte Mitteilungen sprechen dafür, daß die festen Bodenbestandteile in der oben bereits erörterten Weise das Freiwerden des Cyanamids begünstigen. Ueber die Wirkung der Kohlensäure wird weiterhin zu sprechen sein.

---

1) Vergl. P. Wagner u. a. l. c. p. 295 f.

2) Behrens, Deutsche landw. Presse. 1905. p. 770; Ashby, Journ. of Agric. Science. Vol. I. 1905. p. 358; Jahresber. f. Agrik.-Chemie. 1905. p. 121; Perotti, Arch. Farmacol. speriment. Vol. V. 1906; Kappen, Fühlings landw. Zeitung. 1907. p. 122.

3) Der von Stutzer in seiner Bemerkung gegen meine an seiner früheren Ansicht geübten Kritik (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XX. p. 799) gebrachte Hinweis, daß seine Arbeit nicht erst 1907, wie ich zitiert hatte, sondern bereits 1906 erschienen sei, ist allerdings richtig. Das ist jedoch aus der Arbeit selbst nicht zu ersehen, und auf dem Titelblatte des betreffenden Bandes steht 1907. Wenn aber Stutzer jetzt seine Ansicht als die „ältere" bezeichnet und die von mir (in meinen Anfang 1905 veröffentlichten Mitteilungen) vertretene als die „neuere", so vermag ich ihm bei einer so ganz besonderen Art der Zeitrechnung allerdings nicht zu folgen. Daß er übrigens jetzt bereits seine Meinung geändert hat, ist allerdings noch verhältnismäßig früh, wenn man berücksichtigt, daß er noch im Jahre 1899 (Fühlings landw. Ztg. Heft 7) den Landwirten die Sache so darstellte, als ob über die salpeterbildenden Bakterien noch nichts Zuverlässiges bekannt sei. Und zu seiner Mißbilligung meines „schroffen Tones" muß ich mir die Bemerkung erlauben, daß ich stets das Prinzip befolge, daß die Art der Kritik der Qualität der aufgestellten Behauptungen möglichst angepaßt sei. Auch dieses Prinzip ist nicht neueren Datums, wie dies doch jedem Agrikulturchemiker wohl bekannt sein sollte. Ueberdies haben ja gerade Stutzers „Entdeckungen" des „Salpeterpilzes", des „Bakteriums der Maul- und Klauenseuche", wie so manches andere Resultat seiner Betätigung auf bakteriologischem Gebiete mit vollstem Rechte zu entsprechenden Kritiken bereits Veranlassung gegeben.

Perotti sowie Kappen haben darüber spekuliert, weshalb das (in gleicher Weise, wie dies nach Immendorffs Untersuchungen auch für die anderen primären Spaltungsprodukte des Kalkstickstoffs gilt) für die höheren Pflanzen entschieden giftige[1]) Cyanamid doch von den Bakterien zersetzt wurde, ohne jedoch zu einem entscheidenden Resultate zu kommen. Unter Berücksichtigung der Befunde Remys[2]), denen zufolge auf leichtem, nicht aber auf schwerem Boden manche Bakteriengruppen durch eine Kalkstickstoffdüngung sehr beträchtlich geschädigt werden, wird auch dieser Punkt später noch näher zu erörtern sein.

Während Immendorff der Ansicht war, daß die Bakterien das zuerst in der Lösung entstehende einbasische Kalksalz des Cyanamids $(CN_2)_2H_2Ca$ leicht zu spalten vermögen, gelangte Kappen auf Grund seiner mit Erde durchgeführten und demnach naturgemäß sehr unklaren Versuche zu der Vermutung, daß es speziell das Cyanamid sei, das von den Bakterien angegriffen werde, während Ulpiani diesen Körper früher als nicht gärungsfähig befunden hatte. Die von Sabaschnikoff im hiesigen Laboratorium angestellten Versuche lehrten, daß durch Reinkulturen in einer Kalkstickstofflösung nur dann kräftig Ammoniak gebildet wurde, wenn die Lösung vorher entweder erhitzt oder ihr gleichzeitig absorbierende Substanzen sowie Kohlensäure hinzugefügt wurden. Während Kohlensäure allein, die nach Kappen hätte genügen müssen, keine Ammoniakbildung zustande kommen ließ. In Uebereinstimmung mit meinen früheren Befunden erwiesen sich sämtliche in der Kalkstickstofflösung tätige Formen zur Harnstoffspaltung befähigt. Ebenso wurde der von mir erlangte Befund, daß unter dem Einflusse der Mikroflora des Bodens die Harnstoffspaltung viel lebhafter verläuft als die Ammoniakbildung aus Kalkstickstoff, durch Untersuchungen Popps[3]) bestätigt.

Dies dürften im wesentlichen die hier in Betracht kommenden Tatsachen und Hypothesen sein. Wie man sieht, fehlt es nicht an Widersprüchen und Unklarheiten, die nun allerdings durch die Veröffentlichungen Kappens, mit denen wir uns jetzt im speziellen befassen müssen, keineswegs vermindert wurden.

Kritik der Veröffentlichungen Kappens.

Aus Kappens Feder erschienen bisher vier Abhandlungen über die Kalkstickstoffzersetzung, eine im Jahre 1907[4]), drei im Jahre 1908[5]). Die erste Veröffentlichung war als Mitteilung aus der agrikulturchemischen Versuchsstation Berlin bezeichnet, die drei anderen als Mitteilungen aus dem chemischen Laboratorium der landwirtschaftlichen Versuchsstation Jena. Auf die verschiedenen Unrichtigkeiten, die in der ersten (Berliner) Mitteilung enthalten sind, habe ich bereits aufmerksam gemacht[6]). Da jedoch Kappen sowohl in einem Nachwort zu seiner ersten

1) Wagner (Arbeiten der D. L. G. Heft 129. p. 269) sieht nur das Dicyandiamid als schädlich an, die anderslautenden Befunde Immendorffs berücksichtigt er nicht. Eigene Versuche in dieser Hinsicht hat er nicht ausgeführt.

2) Remy, Landw. Jahrb. Bd. XXXV. 1906. Erg.-Bd. IV. p. 114.

3) Landw. Vers.-Stat. Bd. LXVIII. 1907. p. 306 f.

4) Fühlings landw. Zeitung. 1907. p. 122.

5) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XX. p. 704; Fühlings landw. Zeitung. 1908. p. 279; Landw. Versuchsstationen. Bd. LXVIII. p. 301.

6) Fühlings landw. Zeitung. 1908. p. 22 f.; Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XX. p. 325 f.

Arbeit aus dem Jahre 1908 sagt, daß meine Kritik „in den meisten Stücken unzutreffend" gewesen sei, und in seiner zweiten Arbeit, daß die Irrtümer, von denen ich sprach, nicht auf seiner Seite gelegen hätten, so bin ich genötigt, zunächst nochmals auf diesen Punkt kurz zurückzukommen.

Die Angaben Kappens von 1907, um die es sich hier handelt, waren folgende:

1) In einer erhitzten Kalkstickstofflösung ist der Stickstoff fast ausschließlich in Form von Dicyandiamid enthalten.

2) Daß in Löhnis' Versuchen der Stickstoff der offenbar dicyandiamidhaltigen Kalkstickstofflösung von den Bodenbakterien vollständig zu Ammoniak verarbeitet wurde, muß durch die innegehaltenen Versuchsbedingungen, speziell durch den Zusatz von Traubenzucker veranlaßt worden sein.

3) Dadurch, daß dann, wenn man die Erde mit der Kalkstickstofflösung zusammen erwärmt, die Ammoniakbildung vermindert wird, ist bewiesen, daß Dicyandiamid zur Entstehung gelangte.

4) Im Sandboden wurde nach 3 Wochen nur etwa die Hälfte des Cyanamidstickstoffs als Ammoniak wiedergefunden. Fraglos ist diese Erscheinung auf eine teilweise Dicyandiamidbildung zurückzuführen.

Demgegenüber führten mich meine Untersuchungen zu folgenden Schlüssen:

1) Da das Dicyandiamid unter den innegehaltenen Versuchsbedingungen nicht zersetzt wird, in der erhitzten Kalkstickstofflösung aber restlose Ammoniakbildung stattfindet, so kann in ihr kein Dicyandiamid vorhanden sein.

2) Die Anwesenheit geringer Mengen organischer Substanzen ist nicht für die Art, sondern nur für die Schnelligkeit des Verlaufes maßgebend. Die Behauptung Kappens, daß in meinen Versuchen die Zersetzung ganz unterblieben sei, wenn der Lösung keine besonderen Zusätze gegeben wurden, ist, wie ein Blick in meine erste Mitteilung lehrt, falsch.

3) Die beim Erwärmen der mit einer Kalkstickstofflösung getränkten Erde konstatierte Minderung der Ammoniakbildung wird mit Unrecht auf Dicyandiamidbildung zurückgeführt; die den Bodenbakterien zugefügte Schädigung wurde nicht berücksichtigt.

4) Die Annahme, daß im Sandboden Dicyandiamidbildung stattgefunden habe, ist unbegründet. Da weder die Versuchsdauer variiert, noch Maßnahmen gegen Ammoniakverluste getroffen wurden, war das Resultat nach keiner Richtung hin maßgebend.

In der im Jahre 1908 veröffentlichten ersten und zweiten Arbeit kommt Kappen unter anderem zu folgenden, uns hier zunächst interessierenden Ergebnissen:

1) In der im Dampf sterilisierten Kalkstickstofflösung ist kein Dicyandiamid vorhanden.

2) Die Anwesenheit von Asparagin und Traubenzucker ist für die Ammoniakbildung aus Cyanamid nicht nötig, sie wirkt nur fördernd darauf ein.

3) Es muß zugegeben werden, daß es unrichtig war, die die Ammoniakbildung verzögernde Einwirkung des Erwärmens der Erde in einseitiger Weise auf Dicyandiamidbildung zurückzuführen, die den Bakterien zugefügte Schädigung aber nicht zu berücksichtigen.

In bezug auf diese drei Punkte ist also jetzt Uebereinstimmung zwischen meinen und Kappens Angaben vorhanden. Den vierten oben angeführten Satz läßt er unerörtert. Danach ist aber von Kappen selbst erwiesen, daß meine gegen seine 1907 publizierte Arbeit erhobenen Einwendungen zu Recht bestanden. Seine Behauptung, die Irrtümer hätten nicht auf seiner Seite gelegen, und meine Kritik sei in den meisten Stücken unzutreffend gewesen, muß danach als objektiv unwahr charakterisiert werden.

Weiter hat sich Kappen nunmehr, da seine ersten auf die Dicyandiamid-Hypothese gegründeten Angriffe gegen meine Mitteilungen sich als haltlos erwiesen haben, in anderer Weise bemüht, zu seinem Ziele zu gelangen, d. h. zu zeigen, daß meine Untersuchungen keine Beiträge

zur Lösung der Frage nach der Kalkstickstoffzersetzung darstellten. Er überzeugte sich, wie dies Perotti[1]) bereits früher getan hatte, daß beim Erhitzen einer Kalkstickstofflösung der Cyanamidstickstoff allmählich verschwindet, so daß nach zweimaligem Sterilisieren etwa noch ein Drittel, nach fünfmaligem nur noch ein geringer Anteil des in der Lösung befindlichen Stickstoffes als Cyanamid nachgewiesen werden konnte. Leider hat er aber weiterhin nicht, wie dies Perotti mit vollem Rechte getan hatte, sich die Frage vorgelegt, ob nicht auch dann, wenn das Cyanamid noch nicht durch Erhitzen verändert wurde, die Spaltung in analoger Weise sich vollzieht. Dies wäre jedoch um so nötiger gewesen, da einerseits durch mich bereits festgestellt war, daß in der nicht erhitzten Kalkstickstofflösung die Zersetzung bei Impfung mit Erde ebenso verläuft, wie in der zweimal im Dampf erhitzten, andererseits Perotti in Uebereinstimmung hiermit gefunden hatte, daß meine Angaben auch dann Bestätigung fanden, wenn eine bei relativ niederer Temperatur pasteurisierte Kalkstickstofflösung, in der der Stickstoff noch vorwiegend in Form von Cyanamid zugegen war, zur Verwendung gelangte. Wie ich bereits bei anderer Gelegenheit bemerken mußte, hat Kappen auch in diesem Falle sich der Pflicht zur Nachprüfung der von ihm angezweifelten Angaben entzogen. Doch nicht allein das, auch die Beweise für seine neu aufgestellten Behauptungen ist er schuldig geblieben. Er findet zunächst[2]), daß in Kalkstickstofflösungen, die 3 Stunden unter gelindem Drucke im Dampf erhitzt wurden, sehr bedeutende Ammoniakmengen vorhanden sind. Als er aber diese Lösungen mit verschiedenen Erdsorten impfte und die dann gebildeten Ammoniakmengen mit denjenigen verglich, die die betreffenden Erden in nicht erhitzter Lösung produzierten, ergab sich, abgesehen vom Moorboden, ein sehr weitgehender Parallelismus. (Wäre er beim Sterilisieren nicht so sehr von dem von mir angegebenen Maße abgewichen, dann hätte er sich auch überzeugen können, daß die Gesamtmengen an Ammoniak gleichfalls in beiden Fällen übereinstimmen.) Des weiteren sucht er nun seine Ansicht dadurch zu stützen, daß er behauptet, beim Erhitzen der Kalkstickstofflösung bilde sich durch Umwandlung des zunächst entstehenden Dicyandiamids Cyansäure und Amidodicyansäure, Substanzen die dem Kalkstickstoff völlig fern ständen und mit den bei der Düngung mit Kalkstickstoff entstehenden Zersetzungsprodukten nichts mehr zu tun hätten. Auch in diesem Falle ist er den Beweis in jeder Hinsicht schuldig geblieben. Was die Bildung des Dicyandiamids beim Erhitzen der Kalkstickstofflösung anlangt, so genügt es naturgemäß keineswegs, wenn er emphatisch bemerkt, daß die primäre Bildung jener Substanz „nicht wegzuleugnen“ wäre. Allerdings gibt Silbernitrat in Gegenwart von Salpetersäure, mag die Kalkstickstofflösung vorher kurze oder lange Zeit erhitzt worden sein, einen Niederschlag, aber Dicyandiamid ist das, wie die vollständige Zersetzlichkeit beweist, ganz zweifellos nicht. Wir brauchen jene Behauptung allerdings nicht „wegzuleugnen“, denn bisher fehlt ja überhaupt noch jeder Anhalt dafür, daß beim Erhitzen der verdünnten Kalkstickstofflösung primär Dicyandiamidbildung stattfindet. Und wenn nun Kappen weiterhin im Anschluß an Hallwachs nachweist, daß bei fortgesetztem intensiven Erhitzen einer mit Aetzkalk versetzen Dicyandiamidlösung ein kleiner Teil dieser Substanz in Cyansäure und Amidodicyansäure umgewandelt wird, so

1) Archivio Farmacol. Speriment. T. V. 1906. p. 385.
2) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XX. p. 707 (Tabelle I).

spricht auch diese Tatsache sehr für unsere und sehr gegen Kappens Meinung. Das Dicyandiamid setzt seiner Umwandlung sehr großen Widerstand entgegen; weshalb aber kann man es dann, wenn es wirklich in der Kalkstickstofflösung zunächst entstände, gar nicht mehr darin nachweisen? Und weshalb sollte es in dem einen Falle trotz fünfmaliger Erhitzung[1]) nur zu einem ganz geringen Teile, im anderen Falle bei weit weniger intensiver Erwärmung vollständig umgewandelt worden sein? Für Kappen existieren diese Fragen nicht, ebensowenig kommt für ihn die Möglichkeit in Betracht, ob nicht vielleicht aus dem Cyanamid direkt Cyansäure entstehen könnte; ja auch nur den Nachweis dafür zu erbringen, daß in der erhitzten Kalkstickstofflösung wirklich Cyansäure und Amidodicyansäure vorhanden sind, hält er für gänzlich überflüssig. Er begnügt sich damit, das allmähliche Verschwinden des mittels der ammoniakalischen Silbernitratlösung nachweisbaren Cyanamidstickstoffes titrimetrisch zu verfolgen, und hält die hierbei erlangten Befunde für genügend, um daraufhin meinen Untersuchungen jeden Wert abzusprechen. Nun ist zwar, wie ich bereits früher darlegte, die nach Perottis Vorgang auch von Kappen benutzte Titrationsmethode ziemlich unzuverlässig, so daß man auch in dieser Hinsicht Kappens Angaben zunächst nur mit Vorbehalt aufnehmen darf. Herr Dr. N. Caro hat diese Methode inzwischen verbessert; für freundliche Mitteilung seiner Befunde, die noch nicht veröffentlicht wurden, sind wir ihm zu aufrichtigem Danke verpflichtet. Wir haben danach den Verlauf der Cyanamidzersetzung gleichfalls verfolgt, und sind dabei im ganzen zu ähnlichen Resultaten gelangt, wie sie Perotti und Kappen mit der unsicheren Methode erhalten haben. Da demgemäß damit zu rechnen ist, daß in der ein- oder zweimal erhitzten Lösung, wie ich sie seinerzeit zu meinen Umsetzungsversuchen mit Erde benutzte, noch zwei oder ein Drittel des Cyanamidstickstoffes vorhanden waren, so hat Kappen auch hier unbewußt den Beweis geliefert, daß bei meinen Umsetzungsversuchen, in denen ich die restlose Stickstoffumwandlung nachwies, in der Tat eine Cyanamidspaltung stattgefunden hat. Durchaus berechtigt waren andererseits Perottis und Kappens Zweifel hinsichtlich meiner Versuche mit Reinkulturen. Erwägungen gleicher Art hatten uns ja auch bereits im Jahre 1907 dazu geführt, das Verhalten der Reinkulturen in kalt sterilisierter Kalkstickstofflösung zu studieren, wobei sich bekanntlich ergab, daß nur dann, wenn durch Zusatz absorbierender Substanzen und Kohlensäureeinwirkung der Tätigkeit der Bakterien vorgearbeitet worden war, diese die Ammoniakbildung zu bewirken imstande sind. Außerdem hatte sich bei den von Sabaschnikoff unter meiner Leitung durchgeführten Untersuchungen erneut gezeigt, daß es für die mit Erde angesetzten Versuche gleichgültig ist, ob dazu erhitzte oder nicht erhitzte Lösung verwendet wurde. Dies zeigte sich besonders deutlich an dem völlig parallelen Verlauf der 1904 bezw. 1907 festgestellten Zersetzungskurven.

Kappen behauptet in der in Rede stehenden Arbeit, daß alle die Fragen, die ich mir seinerzeit in bezug auf die Kalkstickstoffzersetzung gestellt habe, „noch in ihrem ganzen Umfange ihrer Erledigung harren". Auch für diesen Ausspruch fehlt jeder Beweis, und er kann natür-

1) Auch der Dampfdruck muß in diesen Versuchen recht erheblich gewesen sein, anderenfalls wäre es ganz unverständlich, daß aus der stark alkalischen Lösung (speziell aus der Barytlösung) gar kein Ammoniak entwichen sein sollte.

lich auch in keiner Weise erbracht werden. Daß Bakterien bei der Ammoniakbildung aus Kalkstickstoff im Boden wirksam sind, war die erste Feststellung; sie ist heute unbestritten. Die Kalkstickstoffzersetzung zeigte bei den Umsetzungsversuchen eine sehr charakteristische Jahreskurve, und diese Resultate wurden übereinstimmend in der erhitzten wie in der nicht erhitzten Lösung erhalten. Die isolierten Bakterien erwiesen sich befähigt, nicht nur die erhitzte, sondern auch die nicht erhitzte Kalkstickstofflösung unter gewissen Bedingungen zu zersetzen. Es wurden aus der nicht erhitzten Lösung die gleichen Arten wie aus der erhitzten Lösung, außerdem noch nahe verwandte Formen isoliert, die in ihrem physiologischen Verhalten ganz mit den früher gewonnenen Species übereinstimmten.

Alle diese Fragen sind vollständig erledigt. Inwieweit Kappens Zweifel berechtigt waren oder nicht, habe ich dargelegt und ebenso gezeigt, daß seine Beweisführung in keiner Weise seine Behauptungen stützt. Auf seine vollständig irreführende Angabe, man dürfe bei bakteriologischen Arbeiten über Kalkstickstoff „unter keinen Umständen die Kalkstickstofflösungen einer Sterilisation, ja überhaupt nur einer Erwärmung unterwerfen", wird noch zurückzukommen sein. Ich werde zeigen, daß und weshalb jemand, der Kappens Ratschlägen folgen wollte, mit Reinkulturen (falls er nicht gleichzeitig absorbierende Substanzen und Kohlensäure zu Hilfe nähme, von denen Kappen indessen gar nichts sagt) nie eine deutliche Ammoniakbildung erhalten würde. Ich sehe mich genötigt, im Interesse des von mir vertretenen Faches ernstlich Einspruch zu erheben gegen die Art und Weise, wie ein in der Bakteriologie vollständig Unorientierter sich für berechtigt hält, Einwendungen zu erheben und Ratschläge zu erteilen, die nicht nur gänzlich unbegründet sind, sondern die geradezu, zumal sie als Mitteilungen aus landwirtschaftlichen Versuchsstationen bezeichnet sind, vollständig irreführend wirken könnten.

Im Nachwort[1]) zu der soeben kritisierten Arbeit bemerkt Kappen, daß auch die im Jahre 1907 im hiesigen Laboratorium ausgeführten Untersuchungen ihm keine Veranlassung gegeben haben, „auch nur ein Wort" an seinen vorstehenden Mitteilungen zu ändern. Obwohl er also jetzt ganz genau darüber orientiert ist, daß sich auch in der nicht erhitzten Kalkstickstofflösung die Ammoniakbildung in der gleichen Weise vollzieht, wie in der erhitzten, und daß die Kalkstickstoffbakterien in der einen wie in der anderen Lösung wirksam sind, vorausgesetzt, daß durch Zugabe von Kohlensäure und absorbierenden Substanzen für den normalen Verlauf der primären Spaltungen Sorge getragen ist, bleibt er dabei, daß meine Untersuchungen keinen Beitrag zur Lösung der Frage nach Ursache und Verlauf der Kalkstickstoffzersetzung darstellen, auch heute noch sollen alle die Fragen, die ich behandelte, in ihrem vollen Umfange der Lösung harren. Damit hat er sich aber der zweiten Unwahrheit schuldig gemacht.

Hierzu kommt nun noch, daß Kappen[2]) die Sache so darstellt, als ob ich der Ansicht sei, die Umwandlung des Kalkstickstoffes im Boden gehe über Dicyandiamid. Da ich in meiner ersten, Anfang 1905 veröffentlichten Arbeit es ausdrücklich ablehnte, mich des näheren über die nacheinander auftretenden Spaltungsprodukte des Kalkstickstoffes zu

---

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XX. p. 715.
2) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XX. p. 705.

verbreiten, sondern mich darauf beschränkte, über die vor allem wichtige Ammoniakbildung einen Ueberblick zu gewinnen, so ist es offenbar ein durchaus unstatthaftes Vorgehen, wenn Kappen mir dann 3 Jahre später eine Annahme zuschreibt, die ich nie geäußert habe und von der inzwischen einwandsfrei erwiesen war, das sie unrichtig ist. Dabei bleibt es aber noch nicht einmal. Obwohl Kappen aus meinen neuen Untersuchungen ersehen hat, daß ich ganz und gar nicht jene mir imputierte Annahme hege, mich vielmehr eben wegen der Unzersetzlichkeit des Dicyandiamids entschieden gegen die landläufige Dicyandiamidhypothese wende, ist dies für ihn durchaus keine Veranlassung „auch nur ein Wort" an seinen Ausführungen zu ändern. Ich bin also nach Kappen der Ansicht, daß die Ammoniakbildung über Dicyandiamid geht. Danach muß ich aber seine Angaben zum dritten Male als objektiv unwahr bezeichnen.

Verschiedene andere Unrichtigkeiten der Kappenschen Darstellungen werden bei der folgenden Besprechung unserer weiteren Untersuchungen ihre Erledigung finden. Ehe ich mich diesen zuwende, muß ich jedoch an dieser Stelle noch bemerken, daß ich mich in Zukunft, falls Herr Dr. Kappen es für angebracht halten sollte, sich in der bisherigen Weise weiter zu betätigen, mich darauf beschränken werde, lediglich auf die Mängel seiner Darlegungen hinzuweisen. Es ist mir ganz unmöglich, jedes Jahr einige Monate darauf zu verwenden, durch ad hoc angestellte Versuche die Irrtümer wieder zu beseitigen, die augenscheinlich mit so geringer Ueberlegung und Sachkenntnis hingestellt werden. Diese Aufgabe wird um so unangenehmer, als wir dann, wenn es zur Entscheidung kommt, wie ich zeigen mußte, Unwahrheiten in Kappens Darlegungen begegnen, die eine weitere Beschäftigung mit seinen Arbeiten zu einer höchst unerfreulichen Angelegenheit machen.

Weitere Untersuchungen.

Die erste Aufgabe, die wir uns stellten, war die, zu ermitteln, an welcher Stelle die Tätigkeit der ammoniakbildenden Bakterien beim Kalkstickstoffabbau einsetzt. Zweitens galt es, die Art und Weise zu präzisieren, in der die Erde auf den in Rede stehenden Prozeß einwirkt. Drittens schienen einige weitere Versuche über die Bildung und Zersetzung des Dicyandiamids am Platze zu sein. Und viertens war die Giftwirkung, die das Cyanamid und seine Verbindungen auf die Bakterien ausübt, näher ins Auge zu fassen.

a) Der Verlauf der Hydratation des Cyanamids.

Was zunächst den ersten Punkt anlangt, so ist, wie bereits erwähnt wurde, Kappen der Ansicht, daß das Cyanamid besonders leicht, leichter als das einbasische Kalksalz desselben von den Bakterien angegriffen werden kann. Die Versuchsergebnisse, auf die er diese Angaben gründet, sind sämtlich unter Verwendung von Erde gewonnen; sie sind demnach in keiner Weise beweiskräftig[1]). Die einzigen Zahlen

1) An einer Stelle (Fühlings landw. Zeitung. 1908. p. 283), an der Kappen die ganz richtige Ermittlung Ulpianis, daß Cyanamid durch Bakterien nicht angegriffen wird, als fehlerhaft zu erweisen sich bemüht, sagt er geradezu, daß nicht nur durch seine Umsetzungsversuche mit Erde(!) die „Unhaltbarkeit" jener Angabe „erwiesen" sei, sondern das ginge auch aus Versuchen hervor, bei denen „in Nährlösung die Umwandlung des Cyanamids in Ammoniak durch Bodenbakterien erfolgte". Jeder Leser

in seinen Arbeiten, die für diese Ansicht sprechen, sind jene[1]), in denen die nicht mit Erde geimpften, nicht sterilisierten, asparaginhaltigen Kalkstickstofflösungen nach 3 Wochen 5,68—5,95 mg Ammoniakstickstoff enthielten. Da etwa 1 mg Ammoniakstickstoff in der mittels Leitungswasser hergestellten Kalkstickstofflösung zugegen war und etwa 2 mg aus dem Asparagin entstanden sein können, so müssen in diesem Falle etwa 3 mg Cyanamidstickstoff umgesetzt worden sein. Bei den von Sabaschnikoff ausgeführten Untersuchungen hatte sich dagegen ergeben[2]), daß die kaltsterilisierte Kalkstickstofflösung durch die eingeimpften Reinkulturen nicht zersetzt wurde. Danach mußte (in Uebereinstimmung mit Ulpiani) geschlossen werden, daß die Bakterien das Cyanamid nicht angreifen. Jene auffälligen Zahlen Kappens veranlaßten uns, die Möglichkeit der Ammoniakbildung in der unveränderten Kalkstickstofflösung erneut zu prüfen. Je 50 ccm 2 ‰ Kalkstickstofflösung (Bodenextrakt + 0,5 ‰ K_2HPO_4 + 0,1 ‰ Traubenzucker + 0,1 ‰ Asparagin) wurden im nicht sterilisierten Zustande zum Teil mit durch Papier filtrierter Bodenaufschwemmung oder mit Reinkulturen geimpft; nach dreiwöchiger Versuchsdauer enthielten sie an durch Magnesia usta abspaltbarem Stickstoff:

nicht sterilisierte, nicht geimpfte Lösung	1,75—1,82 mg
mit Bodenaufschwemmung versetzt	1,82—2,03 „
mit einer Mischkultur von Bact. Kirchneri, lipsiense und erythrogenes geimpft	1,89—1,96 „

Das Ergebnis entspricht durchaus unseren früheren Erfahrungen, der Berechnung nach konnten ca. 2 mg Ammoniakstickstoff vorhanden sein. Mit Kappens Angaben steht es dagegen in offenbarem Widerspruch.

Da die Gegenwart von absorbierenden Substanzen den Zerfall der Calciumverbindungen des Cyanamids in Calciumhydroxyd und freies Cyanamid befördert, so wurden außerdem die folgenden Versuche angestellt. Die mit Leitungswasser hergestellte Kalkstickstofflösung blieb zunächst 20 Stunden mit 50 Proz. Erde vermischt stehen, danach wurde filtriert, Bodenextrakt, K_2HPO_4, Asparagin und Traubenzucker zugegeben, mit einem Gemisch der genannten drei Kalkstickstoffbakterien geimpft und einigen Kolben noch je 10 g Sand-Ton-Zeolithgemisch (80:20:1) hinzugefügt. Es wurden dann (in je 50 ccm Lösung) an Ammoniakstickstoff gefunden:

		Versuchsdauer: 10 Tage	20 Tage
Kalkstickstofflösung	+ Kalkstickstoffbakterien	1,82—1,96	1,96—2,10
	+ Bakterien + absorb. Substanz	2,10—2,10	2,38—2,52

glaubt nun natürlich, daß die danach folgenden Zahlen in der Tat sich auf mit Bakterien geimpfte Nährlösungen beziehen. Er würde jedoch mit dieser Annahme einer argen, durch Kappens Darlegungen veranlaßten Täuschung unterliegen. Denn die betreffenden Zahlen sind gar nicht in mit Bakterien, sondern in mit Erde geimpften Nährlösungen gefunden worden, wie sich aus einem Vergleich der zitierten Stelle mit einer anderen (Landw. Versuchsstationen. Bd. LXVIII. p. 329) ergibt. Hier kehrt derselbe Versuch wieder, dabei ist aber auch gesagt, daß zur Impfung 10 Proz. Erde dienten. Man könnte wohl geneigt sein, jene erste Angabe als eine offenbare Irreführung des Lesers anzusehen, indessen ist das nicht der Fall. Kappen hält nämlich, wie ich weiterhin zu zeigen haben werde, 10 g Erde für keine Erde, und so ist er eben zu der unrichtigen Ansicht gekommen, daß jener Versuch die Möglichkeit der Bakterieneinwirkung auf Cyanamid „erwiesen“ habe.

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XX. p. 712.

2) l. c. Bd. XX. p. 327 f.

Die Resultate sind den früher von uns erlangten ganz analog; es bleibt völlig rätselhaft, wie Kappen zu den hohen Ammoniakzahlen in der nicht sterilisierten Kalkstickstofflösung gelangte. Nicht ganz ausgeschlossen ist es allerdings, daß beim Einsetzen in die Tabelle die Zahlen für die ungeimpften Kolben verwechselt wurden; der Berechnung nach würden in der Tat die für die nicht sterilisierten Kolben angegebenen Zahlen sehr gut für die sterilisierten stimmen, und umgekehrt. Natürlich ist eine solche Vermutung außer der Norm, das gilt jedoch, wie ich oben zeigen mußte, für die Kappenschen Arbeiten überhaupt.

Speziell eine von ihm an anderer Stelle mitgeteilte Versuchsreihe scheint mir sehr für meine, ich gebe zu, ganz ungewöhnliche Annahme zu sprechen. Während ich schon beim ersten Beginn meiner Arbeiten [1]) festgestellt hatte, daß in der Kalkstickstofflösung, der man ihre natürliche Alkalinität beließ, die Ammoniakbildung besser von statten ging, als es dann der Fall war, wenn man sie mit Phosphorsäure neutralisierte, kommt Kappen neuerdings zu entgegengesetzten Resultaten. Er findet [2]), daß eine Kalkstickstofflösung, woraus der beim Zusatz von K_2HPO_4 entstehende Niederschlag samt dem abgeschiedenen $Ca(OH)_2$ abfiltriert wurde [3]), nach der Impfung mit Erde besser zersetzt wurde, als eine Lösung, die den kalkhaltigen Niederschlag noch enthielt und deshalb stärker alkalisch reagierte. Die betreffenden Zahlen sind folgende (Stickstoffgehalt der Lösung 34 mg):

	Filtrierte Lösung	Nicht filtrierte Lösung
Lehmboden, feucht	24,74	9,95
Lehmboden, lufttrocken	24,88	10,34
Sandboden, gedüngt	19,80	6,02
Sandboden, ungedüngt	19,17	9,90
Komposterde	26,31	15,18
Niederungsmoor	27,83	7,19

Auch hier bleibt kaum ein anderer Schluß übrig, als der, daß eine Zahlenverwechslung vorliegt [4]). Wir erhielten bei analogen Versuchen folgende Befunde:

	Filtrierte Lösung (9,94 mg N)	Nicht filtrierte Lösung (13,30 mg N)
Destillation nach 10 Tagen	2,10—2,66	2,80—2,80
„ „ 20 „	3,36—3,78	7,14—8,40
„ „ 30 „	3,64—3,78	6,02—7,98

Also wiederum Uebereinstimmung mit früheren Erfahrungen und ein schwer erklärlicher Gegensatz zu Kappens Angaben.

Um uns über die Zersetzung des freien Cyanamids Klarheit zu verschaffen, stellten wir uns eine ausreichende Menge davon teils durch Einleiten von Chlorcyan in mit Ammoniakgas gesättigten wasserfreien

1) l. c. Bd. XIV. p. 91.

2) Landw. Versuchsstationen. Bd. LXVIII. p. 326 f.

3) Nach Kappens Ansicht wurde damit auch die ganze Phosphorsäure der Nährlösung entfernt. Die kräftige Ammoniakbildung wäre demnach in den betreffenden Kolben durch die Bakterien bei Abwesenheit von Phosphorsäure bewirkt worden. Die ganz eigenartige Vorstellung, die sich Kappen von den Bakterien gebildet hat, wird hiermit um einen interessanten Zug bereichert. Wie er früher annahm, daß andauernde Erhitzung ohne Einfluß auf die Bakterien bleibt, so meint er jetzt, daß auch bei Abwesenheit der Phosphorsäure eine lebhafte Tätigkeit der Organismen möglich sei.

4) Was speziell die für die nicht filtrierte Lösung mitgeteilten Zahlen anlangt, so stimmen diese mit zwei Ausnahmen genau mit früher an anderer Stelle (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XX. p. 707) veröffentlichten Zahlen überein. Dort lautet die Reihe folgendermaßen: 9,95—10,34—6,31—9,90—15,18—7,99. Nur die dritte und sechste Ziffer zeigt eine, zwar geringe, aber immerhin auffällige Abweichung.

Aether, teils durch Behandlung von Sulfoharnstoff mit frisch gefälltem Quecksilberoxyd dar. Ein erster Versuch gab folgende Zahlen (Bodenextrakt + 0,5 ‰ K_2HPO_4 + 0,1 ‰ Traubenzucker + 0,1 ‰ Asparagin, 14 mg Cyanamidstickstoff, Versuchsdauer 10 Tage):

	Ammoniakstickstoff
geimpft mit Kalkstickstoffbakterien	0,70 mg
geimpft mit Erde	5,60 mg

Also wieder nur bei Gegenwart von Erde eine über das Aspagarin hinausgehende Zersetzung. Weitere Versuche bestätigten diese Befunde. An Cyanamidstickstoff waren diesmal in der Lösung 12,40 mg vorhanden, zum Teil wurden die Kolben vor dem Impfen (außer mit den Nährstoffen) mit je 30 mg $Ca(OH)_2$ pro 50 ccm versetzt, zum Teil wurde nach dem Impfen eine halbe Stunde Kohlensäure eingeleitet und die betreffenden Versuchskolben mit Gummistopfen verschlossen aufbewahrt. Versuchsdauer: 20 Tage.

	ohne CO_2	mit CO_2
ungeimpft	0,42—0,42	0,42—0,42
Kalkstickstoffbakterien	0,70—0,84	1,54—1,54
Bakterien + $Ca(OH)_2$	1,40—1,54	3,50—3,64
Bakterien + 10 g Sand-Ton-Zeolithgemisch	1,68—1,68	2,52—2,66

Nur die mit CO_2 behandelte Cyanamidlösung wurde in zwar relativ geringem, aber doch deutlich wahrnehmbarem Grade angegriffen. Die Anwesenheit von Kalk, bezw. von Calciumbicarbonat wirkte ebenso wie die Gegenwart absorbierender Substanzen in geringem Grade fördernd auf die Ammoniakbildung ein.

Bei den in unserer zweiten Mitteilung über die Kalkstickstoffzersetzung besprochenen Versuchen hatten wir unter anderem festgestellt, daß die Kalkstickstofflösung nur dann von den Bakterien in deutlich hervortretendem Grade angegriffen wird, wenn sie entweder vorher erhitzt oder wenn ihr absorbierende Substanzen hinzugefügt und sie gleichzeitig der Kohlensäureeinwirkung ausgesetzt wurde. Kohlensäurebehandlung allein ließ keine Ammoniakbildung zustande kommen; die alleinige Gegenwart absorbierender Substanzen ermöglichte den Bakterien nur eine sehr geringfügige Tätigkeit. In Verbindung mit unseren neuen, soeben referierten Befunden werden diese Ergebnisse durchaus verständlich. Unter dem Einfluß der absorbierenden Substanzen wird die in der Lösung nur langsam und unvollständig verlaufende Abspaltung des Cyanamids rasch durchgeführt; das Cyanamid erfährt sodann durch die eingeleitete Kohlensäure eine weitere Umwandlung, wodurch der darin enthaltene Stickstoff für die ammoniakbildenden Bakterien zugänglich wird[1]).

Welche Substanz infolge der Kohlensäureeinwirkung aus dem Cyanamid entsteht, war im Hinblick auf das Verhalten der Kalkstickstofflösung beim Erwärmen sowie unter Berücksichtigung der bekannten Tatsache, daß Säure das Cyanamid in Harnstoff überführt, unschwer fest-

1) In gleicher Weise wie die Kohlensäure wirken naturgemäß die in der Laboratoriumsluft vorhandenen Säuren auf eine Cyanamidlösung ein. Bei der üblichen Versuchsstellung und bei Aufbewahrung der Kolben im Kulturenzimmer (mit verhältnismäßig reiner Luft) machen sich diese Einwirkungen nicht bemerklich. Anders ist es dann, wenn man der Laboratoriumsluft absichtlich reichlichen Zutritt verschafft und eine verhältnismäßig lange Versuchsdauer (etwa 2 Monate) wählt. Unter solchen Bedingungen erhielten wir auch in der nur mit Bakterienreinkulturen geimpften Cyanamidlösung eine schwache Ammoniakbildung (2,10 — 2,52 mg Ammoniakstickstoff aus 12,4 mg Cyanamidstickstoff).

zustellen. Theoretisch ist das cyansaure Ammon die Uebergangsstufe vom Cyanamid zum Harnstoff, nach der Formel:

$$C\begin{matrix}\equiv N\\ \diagdown NH_2\end{matrix} + H_2O = C\begin{matrix}\equiv N\\ \diagdown ONH_4\end{matrix} = C\begin{matrix}\diagup NH_2\\ = O\\ \diagdown NH_2\end{matrix}$$

Kappen hatte es durch seine neueren Darlegungen wahrscheinlich gemacht, daß in der erhitzten Kalkstickstofflösung der Stickstoff nicht, wie er früher annahm, als Dicyandiamid, sondern in Form von Cyansäure und Amidodicyansäure vorhanden ist. Den Beweis dafür blieb er allerdings, wie in anderen, so auch in diesem Falle schuldig, mit um so größerer Bestimmtheit aber betonte er in immer neuen Variationen, daß es sich hier um Substanzen handle, die gar nichts mehr mit dem Kalkstickstoff zu tun hätten, die ganz bedeutungslos seien, die im Boden niemals entstehen können etc. Da nach seiner Ansicht die Bakterien das Cyanamid unmittelbar angreifen und besonders leicht und rasch in Ammoniak überführen, so ist jene irrtümliche Meinung unter Berücksichtigung der eigenartigen Vorstellung, die er sich von den Bakterien und ihrer Tätigkeit bildete, allerdings sehr wohl begreiflich. Während sich sonst immer mehr die Erkenntnis Bahn bricht, daß für die auf physikalisch-chemischem bezw. auf biochemischem Wege stattfindenden Umsetzungen weitgehende Analogieen existieren, bedarf es für Kappen gar keiner längeren Ueberlegung: Die durch thermische Energie bewirkte Hydratation des Cyanamids muß nach seiner Meinung unbedingt in ganz anderer Weise, nach ganz anderen Gesetzen von statten gehen, als die durch vitale Energie ausgelöste; die in dem einen Falle intermediär entstehenden Spaltungsprodukte sind für ihn zweifellos (eines Beweises dafür bedarf es gar nicht) „grundverschieden" von denen im anderen Falle.

Wie in manchen anderen Punkten, differieren unsere Ansicht und unsere Befunde auch hier wieder prinzipiell von denjenigen Kappens. Wir prüften den beim Eindampfen einer Kalkstickstofflösung auf dem Wasserbade sich ergebenden Rückstand qualitativ in verschiedener Hinsicht. In Salzsäure löst er sich unter CO_2-Entwickelung, bei nachfolgendem Zusatz von NaOH entweicht Ammoniak; er zeigt also das für Cyanat charakteristische Verhalten. Auf 150° erhitzt, liefert er die Biuretreaktion, gleichwohl dürften beträchtliche Harnstoffmengen nicht darin vorhanden sein, wie weiterhin zu besprechende Umsetzungsversuche zeigen werden. Ammoniak konnte durch Nesslers Reagens nicht nachgewiesen werden. Ebenso waren keine größeren Mengen von Cyanamid mehr vorhanden; ammoniakalische Silbernitratlösung lieferte einen reichlichen weißlich-hellbräunlichen Niederschlag. Es ist danach in der Tat sehr wahrscheinlich, daß beim Erhitzen einer Kalkstickstofflösung der Stickstoff zunächst vorwiegend in Form von Amidodicyansäure und Cyansäure vorhanden ist. Je länger das Erhitzen fortgesetzt wird, um so mehr tritt die Ammoniakbildung in den Vordergrund.

Nach diesen Ermittelungen erschien es zweckmäßig, auch die mit Erde geimpfte Kalkstickstofflösnng von Zeit zu Zeit entsprechenden qualitativen Prüfungen zu unterwerfen. Dazu wurden neben der ammoniakalischen und der salpetersauren Silbernitratlösung, salpetersaures Merkurinitrat mit anschließender Neutralisation der Filtrate durch NaOH, sowie zur Ammoniakbestimmung Nesslers Reagens verwendet. Die ersten orientierenden Versuche ergaben folgende Resultate:

		a. $Hg(NO_3)_2$ $+HNO_3$	b. Filtrat von a + NaOH	c. $AgNO_3$ $+NH_3$	d. Nesslers Reagens
1.	Frisch bereitete Kalkstickstofflösung	reichlicher weißer, flockiger Niederschlag	Mäßiger, flockiger, orangegelber Niederschlag (HgO)	reichlicher, gelber Niederschlag	gelblich-weißer bis bräunlicher Niederschlag
2.	Kalkstickstofflösung, nach mehrtägigem Stehen	ebenso	ebenso	ebenso	reichlicher, hellgelber, flockiger Niederschlag
3.	Eindampfrückstand aus Kalkstickstoff	geringer, weißer Niederschlag	reichliches, weißes, flockiges Sediment	weiß-hellbräunlicher Niederschlag	reichlicher, gelblicher, voluminöser Absatz
4.	Kaliumcyanat, etwas ammoniakhaltig	klar	reichliches, weißes Sediment	reichlicher, weißer Absatz	NH_3-Reaktion
5.	Kalkstickstofflösung + Kaliumcyanat	wie 1.	wie 1.	reichl. gelblich-weißer Absatz	wie 3.
6.	Harnstofflösung	klar	wie 3.	weißl. Trübung, langsam ausfallende weißl.-bräunl. Flocken	wie 3.
7.	Kalkstickstofflösung + Harnstoff	wie 1.	wie 3.	wie 1.	wie 3.
8.	Kalkstickstofflösung + Ammonsulfat	wie 1.	beim Neutralisieren reichl. weißl. flockige Trübung	wie 1.	wie 2.
9.	Kalkstickstoff + Kaliumcyanat + Harnstoff + Ammonsulfat	wie 1.	wie 8.	wie 5.	wie 2.

Die zu den Versuchen 5, 7—9 benutzte Kalkstickstofflösung blieb vor der Verwendung zunächst 20 Stunden mit Erde in Berührung. Beachtenswert ist, wie aus den erlangten Befunden hervorgeht, daß in diesem Falle geringe, der Kalkstickstofflösung hinzugefügte Ammoniakmengen mit Nesslers Reagens nicht mehr die charakteristische Ammoniakreaktion gaben, sondern einen zitronengelben Niederschlag entstehen ließen, wie er auch in der einige Tage aufbewahrten Kalkstickstofflösung auftrat. Ebenso waren geringe Mengen Kaliumcyanat, die man der in der angegebenen Weise gewonnenen Kalkstickstofflösung beifügte, nicht durch Kobaltacetat + Alkohol nachweisbar; es bedurfte relativ großer Cyanatgaben, ehe man die typische Blaufärbung erhielt. Es ist hier nicht der Ort, länger bei den verschiedenen Reaktionen, die wir auch noch in einigen anderen Richtungen probierten, zu verweilen. Nur sei noch bemerkt, daß in der salpetersauren Silbernitratlösung überall, auch bei dem Eindampfrückstand, nur eine schwache, weißliche Trübung wahrzunehmen war, die lediglich auf den Chlorgehalt des Wassers zurückzuführen sein dürfte.

Mit Hilfe einer größeren Zahl von Versuchskolben, die mit Kalk-

stickstofflösung und 10 Proz. Erde beschickt waren, wurden 6 Wochen hindurch aller 1—3 Tage die nötigen Prüfungen ausgeführt. Die zunächst sehr reichliche, weiße flockige Fällung mit salpetersaurem Merkurinitrat begann nach 10 Tagen sich deutlich zu vermindern, nach 3 Wochen fielen nur noch wenig weißliche Flocken langsam aus, dabei blieb es dann bis zum Schluß. Wurde das Filtrat von diesem Niederschlag mit Natronlauge versetzt, so entstand beim Neutralisieren in den ersten Wochen kein deutlich hervortretender weißlicher Niederschlag, vielmehr fiel sofort das orangefarbige Quecksilberoxyd aus. Später, besonders deutlich nach Verlauf von 4 Wochen, stellte sich bei der Neutralisation ein ziemlich reichlicher, weißer, flockiger Niederschlag ein. Das ammoniakalische Silbernitrat lieferte 14 Tage hindurch den für Cyanamid charakteristischen gelben Niederschlag, dann wurde der Farbenton heller und nahm dabei einen Stich ins Bräunliche an; nach 3 Wochen stimmte er im Aussehen vollständig mit dem Niederschlag überein, den bei entsprechender Behandlung der Eindampfrückstand lieferte. Die durch Nesslers Reagens in der frisch bereiteten Kalkstickstofflösung hervorgerufene schmutzig-weißgelbliche Fällung wurde nach 1 Woche deutlich gelb; nach 2 Wochen entstand ein sehr reichlicher zitronengelber Niederschlag[1]), erst nach 20 Tagen machte sich die typische Ammoniakreaktion bemerklich, die dann bald sehr kräftig wurde. Die Kobaltacetatreaktion versagte regelmäßig. Salpetersaures Silbernitrat lieferte stets nur eine unbedeutende Trübung (von AgCl).

Wenn auch naturgemäß auf diese wenigen, vorwiegend orientierenden Prüfungen hin noch keine endgültige Schlußfolgerung aufgebaut werden kann, so darf doch immerhin gesagt werden, daß die Ergebnisse dieser Ermittelungen durchaus im Einklang mit den vorausgeschickten theoretischen Erwägungen stehen. Es treten im normalen Verlaufe der Kalkstickstoffzersetzung an der Lösung dieselben Reaktionen hervor, die sich auch für die erhitzte Lösung bezw. für den daraus gewonnenen Rückstand ergaben. Danach gewinnt die Annahme an Wahrscheinlichkeit, daß die Hydratation in dem einen wie in dem anderen Falle vom Cyanamid über Cyanat zu Harnstoff und weiterhin zu Ammoniak führt.

Dem entsprechen nun schließlich auch durchaus die Ergebnisse, die man bei der Prüfung der verschiedenen Verbindungen, die überhaupt in Betracht kommen können, durch Einimpfung von Reinkulturen in die betreffenden Lösungen erhält. Ebenso wie die Calciumverbindungen des Cyanamids und dieses selbst im unveränderten Zustande nicht von den Bakterien angegriffen wurden, erwies sich auch das cyanamidokohlensaure Calcium, sowie der Guanylharnstoff, der als Reaktionsprodukt des Cyanamids und des Harnstoffs in Betracht kommen konnte, als unzugänglich für die eingeimpften Bakterien. Sehr lebhaft gestaltete sich dagegen die Ammoniakbildung in der Nährlösung mit Kalium- und Ammoniumcyanat, während sie durch Hinzufügung von Cyanamid zu diesen Lösungen, wie das im Hinblick auf das oben geschilderte Verhalten dieser Substanz sehr begreiflich ist, wesentlich verzögert wurde. Wir bereiteten uns verdünnte wässerige Auflösungen der verschiedenen Substanzen, die dann in äquivalenten Verhältnissen zusammentitriert wurden. Das Kaliumcyanat (von Kahlbaum) war, wie bereits erwähnt wurde, etwas ammoniakhaltig, infolgedessen lieferten schon die nichtgeimpften, einmal im strömenden Dampf erhitzten Lösungen geringe Am-

1) MgO treibt zu dieser Zeit beträchtliche Ammoniakmengen aus.

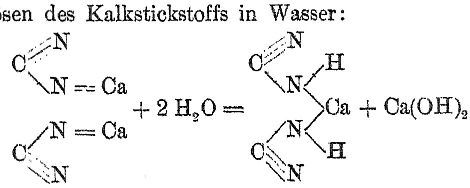
moniakmengen bei der Destillation. Dadurch war aber auch die Möglichkeit zu fortgesetzter Hydratation so vollständig gegeben, daß die Hinzufügung einer entsprechenden Menge Ammonsulfat die Intensität der Zersetzung nicht mehr bedeutend fördern konnte. Die Nährlösung war das stets benutzte Phosphat-, Asparagin- und Traubenzucker-haltige Bodenextrakt, der Stickstoffgehalt der ungemischten bezw. gemischten Substanzen betrug stets 16,24 mg in 50 ccm Lösung. Zur Impfung diente auch hier ein Gemisch der drei kräftigsten Kalkstickstoffbakterien (Bact. Kirchneri, erythrogenes und lipsiense). Nach 20-tägiger Versuchsdauer wurden durch Magnesia usta folgende Stickstoffmengen (in mg) ausgetrieben:

	ungeimpft	geimpft
Kaliumcyanat	1,40—1,54	10,92—11,48
Ammoniumcyanat	6,86—7,00	12,88—13,72
Amidodicyansaures Kalium	1,40—1,40	4,90— 4,90
Amidodicyansaures Ammonium	4,52—4,66	7,14— 7,28

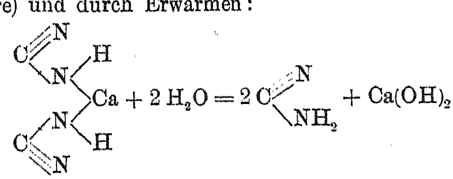
Diese Befunde entsprechen durchaus denjenigen, die ich früher [1]) bei Verwendung von Harnstofflösungen erhielt; es handelt sich eben hier wie dort um eine Harnstoffzersetzung durch Bakterienarten, die gegen die giftigen Wirkungen des Cyanamids und des noch nicht umgelagerten Cyanats verhältnismäßig wenig empfindlich sind. Auf diesen Punkt wird im letzten Teile dieser Arbeit nochmals zurückzukommen sein.

Der ganze Verlauf der Kalkstickstoffzersetznng stellt sich also nunmehr schematisch, wenn wir von manchen allerdings noch möglichen Nebenreaktionen absehen, folgendermaßen dar:

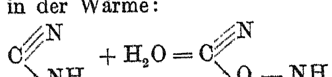
I. Beim Auflösen des Kalkstickstoffs in Wasser:



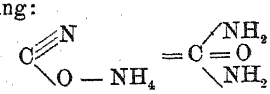
II. Beim Aufbewahren der Lösung, befördert durch Anwesenheit von Erde (Absorption, Kohlensäure) und durch Erwärmen:



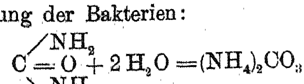
III. Bei gelinder Einwirkung von Säure (Kohlensäurebehandlung) oder infolge Einwirkung von Aetzkalk in der Wärme:



IV. Durch Umlagerung:



V. Infolge Einwirkung der Bakterien:



1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. p. 397.

Danach ist es nun auch ohne weiteres verständlich, daß und weshalb man bei Umsetzungsversuchen mit Erde ganz dieselben Resultate erhält, mag man die Lösung vorher sterilisieren oder nicht. Die Einwirkung der darin vorhandenen absorbierenden Substanzen und der bereits vorher oder während des Versuches gebildeten Kohlensäure wirken in gleicher Weise vorbereitend für die Tätigkeit der Bakterien, wie es im anderen Falle das Erwärmen der Lösung tut. Handelt es sich um die Prüfung von Reinkulturen, dann ist es natürlich entschieden zweckmäßiger, wenn man der im Dampf sterilisierten Lösung den Vorzug gibt; das umständlichere Verfahren, sterilisierte absorbierende Substanzen der durch Porzellan filtrierten Lösung zuzugeben und diese mit Kohlensäure nach der Impfung zu behandeln, führt zu dem gleichen Ergebnis, läßt aber, da Fremdinfektionen hierbei selbstverständlich viel schwerer fernzuhalten sind, ein weit weniger sicheres Urteil über die Bedeutung der betreffenden Bakterienart für die Kalkstickstoffzersetzung zu. Die in vollständiger Unkenntnis des wirklichen Sachverhaltes, aber mit um so größerer Bestimmtheit von Kappen aufgestellte Behauptung, man dürfe auf keinen Fall im Dampf sterilisierte Lösung zu Kalkstickstoffumsetzungsversuchen benutzen, ist vollständig falsch und irreführend. Das gleiche gilt natürlich auch für das, was er hinsichtlich der Notwendigkeit der Verwendung nicht erwärmter Kalkstickstoffgelatine sagt. Der Bereitung stehen erhebliche Schwierigkeiten allerdings nicht entgegen, wenn es auch freilich etwas umständlich ist, die wässerige Kalkstickstofflösung durch Porzellan zu filtrieren und dann unter sorgfältiger Vermeidung einer Infektion mit der vorher im Dampf sterilisierten Nährgelatine (von doppelter Konzentration) bei etwa 30° zu vermischen. Die Resultate, die man beim Beimpfen dieses Substrates erhält, sind ganz die gleichen, wie die auf der im Dampf erhitzten Kalkstickstoffgelatine. Denn die geringen Quantitäten Cyanamid kommen in einem derartigen Gemisch nur sehr wenig zur Geltung, in gewisser Weise wirken sie allerdings elektiv, das tut aber das in der erhitzten Kalkstickstoffgelatine enthaltene Amidodicyanat und Cyanat in gleicher Weise. Ich kann mich natürlich hier nicht länger bei diesen für jeden Bakteriologen selbstverständlichen Dingen aufhalten. Es wäre nur eben sehr wünschenswert gewesen, wenn Kappen etwas früher, am Anfange und nicht erst am Schlusse seiner Arbeit[1]) zu der Erkenntnis gekommen wäre, daß die Bakteriologie für ihn durchaus terra incognita ist, er hätte sich und uns dann sicher auch seine gänzlich unrichtigen und irreführenden Behauptungen erspart.

b) Die Einwirkung der Erde auf die Kalkstickstoffzersetzung.

Wie dargelegt wurde, sind die Bodenbestandteile für die Kalkstickstoffzersetzung vor allem in zwei Richtungen von Bedeutung: die festen Bestandteile setzen durch Absorption bezw. Adsorption des Kalkes das Cyanamid rasch in Freiheit, die Kohlensäure und wohl auch andere schwache Säuren des Bodens wirken gelinde verseifend ein, so daß Amidodicyanate, Cyanate und schließlich Harnstoff entstehen. Außerdem wird aber auch stets ein kleinerer oder größerer Teil des Stickstoffs gebunden. Sabaschnikoff hatte einige orientierende Versuche in dieser Hinsicht angestellt, die auch in unserer zweiten Mitteilung beiläufig er-

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XX. p. 715.

wähnt wurden[1]). Die von ihm erhaltenen Zahlen haben sich indessen als unrichtig erwiesen, der damals zur Sterilerhaltung zugesetzte Formaldehyd reagiert sofort mit dem Cyanamid, infolgedessen wurden zu hohe Absorptionswerte erhalten. Neuerdings von uns ausgeführte Versuche ergaben für unsere Oberholzer Erde eine Stickstoffabsorption von ca. 20 Proz., während Kappen[2]) bei den von ihm verwendeten Erdarten fast durchweg wesentlich geringere Werte erhielt. Die in unserer zweiten Mitteilung angedeutete Vermutung, daß sich bei dem Absorptionsprozeß eine analoge Umlagerung der Stickstoffatome vollziehe, wie dies beim Erwärmen der Kalkstickstofflösung der Fall sei, ist durch unsere oben besprochenen Versuche insofern klargestellt, als die auf den Kalkstickstoff einwirkenden Absorptionsvorgänge die durch die Kohlensäure ausgeübte Verseifung zu Cyanat befördern. Ob nun aber dabei die partielle Stickstofffestlegung eine wesentliche Rolle spielt, ist schwer zu entscheiden. Daß sie nicht unbedingt nötig ist, lehren unsere Versuche, bei denen sich eine Ammoniakbildung in der nur mit Kohlensäure behandelten, mit Bakterienkulturen geimpften Cyanamidlösung einstellte. Allerdings waren die dort erlangten Werte relativ klein, und es wurden auch bereits in unserer zweiten Mitteilung einige Zahlen mitgeteilt, die jetzt besonderes Inferesse gewinnen, denn sie zeigen deutlich, von welch großem Einfluß es ist, daß eine möglichst große Menge Erde mit einer Kalkstickstoffauflösung in Berührung kommt. Es wurden damals (l. c. p. 325. Anm.) folgende Mengen an Ammoniakstickstoff in je 50 ccm Lösung gefunden, wenn zur Impfung verwendet wurde:

Erde	5	10	20	40 g
Ammoniakstickstoff	3,5	6,3	9,4	11,2 mg

Während bei allen anderen bisher daraufhin geprüften Umsetzungen meist schon 5 Proz. Impferde ungefähr denselben Effekt bewirken wie 10 Proz., hat hier eine noch darüber hinausgehende Steigerung des Erdzusatzes ganz entschieden günstig gewirkt. Sicherlich kommt hier die intensivere Kohlensäurewirkung in der größeren Erdmenge sehr wesentlich in Frage. Und dieser Umstand tritt auch an den Ergebnissen einiger Versuche deutlich hervor, die ursprünglich zu anderen Zwecken angestellt wurden. Kappen hatte seinerzeit irrtümlich behauptet, daß in einer längere Zeit bei 40° gehaltenen Erde die Kalkstickstoffzersetzung deshalb eine Verzögerung erleide, weil ein Teil des Stickstoffs in Dicyandiamid übergehe. Er berücksichtigte dabei nicht, daß die Bakterien selbst bei einer derartigen Behandlung geschädigt werden, außerdem aber muß auch auf Grund unserer neueren Befunde der durch das Erwärmen bewirkte Kohlensäureverlust mit als Ursache jener Minderung herangezogen werden. Besonders deutlich geht das daraus hervor, daß wir bei Verwendung sehr großer Erdmengen (100 g Erde mit 25 Proz. Flüssigkeit) nur eine um etwa 3 Proz. verminderte Ammoniakbildung erhielten, während dieser Abfall in der mit 10 Proz. Erde geimpften Lösung ca. 50 Proz. betrug[3]); einmal waren hier die Bakterien viel mehr der Einwirkung der Wärme zugänglich, andererseits konnten naturgemäß aus der relativ geringen Erdmenge nicht schnell genug ausreichende Kohlensäuremengen von neuem produziert werden. Es wird

1) l. c. Bd. XX. p. 328. Anm. 1.
2) Landw. Vers.-Stat. Bd. LXVIII. p. 307 ff.
3) Vergl. Fühlings landw. Ztg. 1908. p. 22 f.

weiterhin von dem jetzt gewonnenen Standpunkte aus sehr begreiflich, weshalb sich von allen von mir beim ersten Beginn meiner Kalkstickstoffarbeiten geprüften organischen Zusätzen der Traubenzucker als am besten geeignet erwies, handelt es sich doch eben hier um diejenige Substanz, die wohl am leichtesten eine lebhafte Kohlensäureproduktion ermöglicht. Perotti[1]) verwendete zur Impfung der Kalkstickstofflösung nur 1 Proz. Erde, die naturgemäß die Kohlensäureeinwirkung nur wenig zur Geltung kommen ließ; daß bei seinen Versuchen die Ammoniakbildung bald stehen blieb, aber durch erneuten Zusatz von 1 Prom. Traubenzucker wieder in Gang kam, ist danach sehr wohl begreiflich.

Daß die Cyanamidabsorption für den Kalkstickstoffabbau nicht notwendig ist, zeigen unsere Versuche; ob sie aber dabei nicht förderlich mitwirkt, muß vorläufig dahingestellt bleiben. Sehr überraschend sind übrigens auch in dieser Hinsicht die Ausführungen Kappens. Dieser Autor hat nämlich bereits in seiner dritten Mitteilung aus der Jenaer Versuchsstation[2]) den, wie er mit gewohnter Sicherheit sagt, „endgültigen Beweis“ geliefert, daß die Cyanamidabsorption nicht notwendig sei. Er impft die Cyanamidlösung mit 10 Proz. Erde und erhält dann eine relativ geringe Ammoniakbildung. 10 g Lehmboden enthalten also nach Kappen keine absorbierenden Substanzen[3]), wenn man sie in die Lösung einträgt, ist das ein „endgültiger Beweis“, daß sie nicht zugegen zu sein brauchen. Ich glaube mich keiner ungerechtfertigten Generalisierung schuldig zu machen, wenn ich annehme, daß außerhalb der Versuchsstation Jena, der wir diese Mitteilung zu verdanken haben, niemand irgend welche Logik in Kappens Beweisführung entdecken wird, und wir können uns demnach sogleich der nächsten Frage zuwenden.

c) Die Bildung und die Zersetzung des Dicyandiamids.

Da sowohl in der deutschen wie in der italienischen Literatur häufig von der Bildung des Dicyandiamids die Rede war, insbesondere von Perotti[4]) kürzlich zwei Arbeiten erschienen, die von einer Ammoniakbildung in konzentrierten Dicyandiamidlösungen bezw. von einer besonderen Gruppe von Dicyandiamidorganismen handelten, so erschien es uns zweckmäßig, auch in dieser Hinsicht von neuem einige Versuche anzustellen. Unsere früheren Befunde, die gezeigt hatten, daß in einer im strömenden Dampf erhitzten Kalkstickstofflösung die Stickstoffumsetzung unter geeigneten Versuchsbedingungen restlos verläuft, hatten uns davon überzeugt, daß die weitverbreitete und besonders von Kappen[5]) in seiner ersten Arbeit mit großer Bestimmtheit vertretene Ansicht, derzufolge in der erhitzten Kalkstickstofflösung der Stickstoff „fast ausschließlich“ in Form des (unter den innegehaltenen Versuchsbedingungen) nicht zersetzlichen Dicyandiamids vorhanden sei, unrichtig sein mußte. Das hat sich denn auch weiterhin durchaus bestätigt, und wenn Kappen jetzt, da er nun doch nicht mehr gut bei seiner früheren Behauptung bleiben kann, sagt, daß die primäre Dicyandiamidbildung gar nicht weggeleugnet werden könnte, so ist natürlich auch diese gänzlich unbewiesene Angabe vollständig bedeutungslos. Allerdings kündigt

1) Arch. di Farmacol. speriment. 1906.
2) Landw. Vers.-Stat. Bd. LXVIII. p. 329.
3) Oder, wie wir weiter vorn erfuhren, 10 g Erde sind (nach Kappen) keine Erde.
4) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XX. p. 514; Bd. XXI. p. 200.
5) Fühlings landw. Ztg. 1907. p. 123.

der genannte Autor in seiner Erwiderung[1]) auf meine Kritik seiner ersten Arbeit an, daß er in seiner zur Veröffentlichung in den „Landwirtschaftlichen Versuchsstationen" bestimmten Abhandlung die „analytischen Belege" für die tatsächlich stattfindende Dicyandiamidbildung bringen werde. In der inzwischen im 68. Bande der genannten Zeitschrift erschienenen Publikation findet sich denn auch auf p. 328 der betreffende „Beweis". Er entspricht in vollkommenster Weise den übrigen von Kappen gelieferten „Beweisen". Da „analytische Belege" für die Dicyandiamidbildung erbracht werden sollen, so wird natürlich nicht das Dicyandiamid bestimmt, sondern lediglich nachgewiesen, daß das Cyanamid sich allmählich verringert, was daraus geworden ist, braucht selbstverständlich gar nicht untersucht zu werden. Es ist in der Tat schwer, ernsthaft zu bleiben: die Cyanamidbestimmung ist der „Beweis" für die Dicyandiamidbildung; dadurch, daß man der Lösung eine große Menge absorbierender Substanzen zusetzen muß, um eine Umsetzung zu erhalten, führt man den „endgültigen Beweis", daß die absorbierenden Substanzen nicht nötig seien; und wenn man feststellen will, wie sich eine Kalkstickstofflösung beim Erwärmen verhält, untersucht man eine mit Aetzkalk versetzte Dicyandiamidlösung. — —

Prof. A. Frank hat bereits in einem im Jahre 1906 auf dem VI. internationalen Kongreß für angewandte Chemie in Rom gehaltenen Vortrage darauf hingewiesen, daß die Annahme, das Cyanamid polymerisiere sich im Boden relativ leicht zu Dicyandiamid, nicht richtig ist. Wir haben erneut Kalkstickstoff-, Calciumcyanamid- und Cyanamidlösung 8 Tage lang bei 40° aufbewahrt, danach mit Erde geimpft und 6 Wochen im konstanten Luftstrom mit Säurevorlage gehalten. Der Kalkstickstoff sowie das Cyanamid wurden wiederum so gut wie restlos in Ammoniak übergeführt. In der erstgenannten Lösung waren 17,22 mg Cyanamid- + Aspargin-Stickstoff vorhanden, als Ammoniak vorgefunden wurden 16,80 mg. In der Cyanamidlösung waren die betreffenden Zahlen 12,40 und 12,12 mg. Nur die Calciumcyanamidlösung ergab eine unvollständige Umsetzung, von 11 mg Stickstoff wurden nur 5,60 mg in Ammoniak übergeführt. Für die Tatsache, daß das gereinigte Calciumcyanamid der Ammoniakbildung weniger leicht anheimfällt, sprachen übrigens auch schon die früher[2]) mitgeteilten Ergebnisse von Felddüngungsversuchen, bei denen wir auf den mit diesem Präparat gedüngten Parzellen eine nur geringe Wirkung konstatieren konnten[3]).

Wollte man sein Urteil auf die von Perotti und Kappen als maßgebend angesehenen Silberfällungen gründen, dann wären allerdings sowohl in der bei 40° aufbewahrten, wie in der im Dampf sterilisierten Kalkstickstofflösung ansehnliche Dicyandiamidmengen vorhanden gewesen. Aber diese Befunde sind nicht ausschlaggebend. Wenn z. B., wie wir es unter anderem konstatierten, in einer zweimal im strömenden Dampf erhitzten Kalkstickstofflösung nach der Dicyandiamidbestimmungsmethode reichlich $^2/_3$ und in der bei 40° aufbewahrten Lösung die Hälfte des insgesamt vorhandenen Stickstoffs gefällt werden, gleichwohl aber die Stickstoffumsetzung restlos verläuft, so ist damit einwandfrei erwiesen,

1) Fühlings landw. Ztg. 1908. p. 282.
2) Fühlings landw. Ztg. 1908. p. 20.
3) Korrekturzusatz: Inzwischen von Herrn Dr. N. Caro ausgeführte Untersuchungen ergaben, daß das zu diesen Versuchen benutzte, von der Cyanidgesellschaft bezogene Calciumcyanamid dicyandiamidhaltig war. Danach sind die oben mitgeteilten Befunde ohne weiteres verständlich.

daß die angewandte Methode unzuverlässig und die darauf gegründeten Schlüsse hinfällig sind.

Als die einzigen, auf eine Dicyandiamidbildung im Boden hinweisenden Anhaltspunkte bleiben somit die entsprechenden Beobachtungen bei Vegetationsversuchen. Aber derartige Ermittelungen sind naturgemäß keineswegs eindeutig. Da die Einwirkung der übrigen Substanzen, die bei der Kalkstickstoffzersetzung entstehen oder durch sekundäre Reaktionen entstehen können, noch gar nicht in dieser Hinsicht geprüft wurden, sondern nur jede Wirkung, die der bei Dicyandiamidzusatz erhaltenen ähnelte, als Beleg für eine Dicyandiamidbildung im Boden angesprochen wurde, so müssen diese Ergebnisse, nachdem auf Grund der auf anderem Wege erlangten Feststellungen die Dicyandiamidbildung im Boden sehr unwahrscheinlich geworden ist, als in kausaler Beziehung noch völlig zweifelhaft bezeichnet werden.

Insbesondere gilt dies auch für die auf Moorboden erlangten Befunde. Sprechen schon z. B. die von Tacke veröffentlichten Angaben, die erst eine deutliche Schädigung, später aber eine, wenn auch nur geringe Wirkung des Kalkstickstoffs verzeichnen, kaum dafür, daß Dicyandiamid die Ursache dieser Erscheinungen gewesen ist, so lieferten auch hier wieder Umsetzungsversuche Resultate, die der Dicyandiamidhypothese durchaus widerstreiten. Wir setzten der Kalkstickstofflösung Huminsäure (von Merck) zu, bis die Reaktion deutlich sauer wurde, bewahrten die Kölbchen zunächst 8 Tage bei 40°, impften dann mit je 10 Proz. Erde und bestimmten nach 15 und 30 Tagen das gebildete Ammoniak. Es fanden sich 5,46 bezw. 7,84 mg N als NH_3 vor, fast genau ebenso viel wie in den oben referierten Versuchen mit der gewöhnlich benutzten Kalkstickstofflösung. Allerdings ist hierbei zu berücksichtigen, daß schon aus den Kontrollkolben, denen nur der Kalkstickstoffzusatz erst unmittelbar vor der Destillation hinzugefügt wurde, die aber im übrigen gleich behandelt und mit Erde geimpft wurden, durch Magnesia usta 2,94 bezw. 3,22 mg N ausgetrieben wurden. An anderen Kolben vorgenommene qualitative Prüfungen lieferten gleichfalls keinen Anhalt für eine Dicyandiamidbildung. Silbernitrat gab in salpetersaurer Lösung nur eine geringe Trübung. Die wenig günstige Wirkung, die Kalkstickstoff auf saurem Moorboden liefert, dürfte demnach allein auf das Fehlen geeigneter Bakterien zurückzuführen sein. Es wäre wohl der Mühe wert, zu prüfen, ob man nicht in solchen Fällen durch Vermischen des Kalkstickstoffs mit Kompost zu günstigeren Ergebnissen kommen kann.

Was nun weiterhin die Mitteilungen Perottis über die Zersetzung[1]) und über die Verwertung[2]) des Dicyandiamids durch Bakterien anlangt, so muß von vornherein beachtet werden, daß dieser Autor zu seinen Versuchen ein Präparat benutzte, daß er sich selbst durch Eindampfen einer Kalkstickstofflösung auf dem Wasserbade herstellte. Dabei entstehen jedoch allerhand andere Verbindungen, bei unseren Versuchen herrschte entschieden das Cyanat vor, während die Dicyandiamidausbeute nur sehr gering bleibt. H. Jacoby[3]) hat neuerdings bei Untersuchungen über den Kalkstickstoff, die er im Laboratorium Prof. F. Försters an der Technischen Hochschule in Dresden durchführte, ebenfalls gefunden, daß es keineswegs leicht ist, zu einer einigermaßen ansehnlichen Dicyan-

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XX. p. 514.
2) l. c. Bd. XXI. p. 200.
3) Jacoby, H., Ueber die Bildung von Kalkstickstoff. Diss. 1908. p. 82.

diamidausbeute zu kommen. Er weist auch mit Recht darauf hin, daß der hohe Preis des reinen Präparats die Schwierigkeiten der in bezug auf die maßgebenden Einzelheiten geheim gehaltenen Darstellungsweise erkennen lassen.

Wie die früheren Mitteilungen von Perotti und Ulpiani über eine kräftig düngende Wirkung des Dicyandiamids berechtigten Zweifeln begegnen mußten, da sich das reine Dicyandiamid in zahlreichen Düngungsversuchen stets als gänzlich unbrauchbar und in einigen Umsetzungsversuchen immer als durchaus ungeeignet zur Ammoniakbildung erwiesen hatte, so erschienen mir auch die neueren Mitteilungen Perottis im Hinblick auf die bei früher ausgeführten Umsetzungsversuchen gesammelten Erfahrungen dringend einer Nachprüfung bedürftig zu sein. Diese wurde genau nach der von Perotti[1]) gegebenen Vorschrift durchgeführt; neben einem von der Cyanidgesellschaft bezogenen Dicyandiamidpräparat wurde zur größeren Sicherheit auch noch ein zweites Präparat (von Kahlbaum) benutzt. Die Resultate stimmten untereinander vollständig, jedoch in keiner Weise mit Perottis Befunden überein. In keinem Falle war auch nur eine Spur einer Ammoniakbildung zu konstatieren. Die durch Magnesia usta ausgetriebene Stickstoffmenge war am Anfang und am Ende ganz dieselbe, 0,42 mg pro 50 ccm. In der 0,1-proz. Dicyandiamidlösung entwickelten sich auf Kosten des Zuckers einige kleine flockige Ansammlungen von (wahrscheinlich stickstofffixierenden) Buttersäurebakterien. In der 1-proz. Lösung wuchsen einige kümmerliche Pilzflöckchen, an der Oberfläche waren in größerer Zahl winzige Inselchen von Pilzsporen wahrzunehmen. Die 5- bezw. 10-proz. Lösung blieben dauernd vollständig steril, sie enthielten auch beide noch ansehnliche Mengen ungelösten Dicyandiamids, während Perotti mit der von ihm benutzten Substanz erst bei 10 Proz. den Sättigungsgrad erreichte. Die Mitteilungen Perottis über die Ammoniakbildung in Dicyandiamidlösungen, sowie über die Verwertung des Dicyandiamids durch Bakterien und Pilze beruhen auf Irrtümern, die durch Verwendung unreiner Präparate veranlaßt wurden. In einer mit 0,5 Proz. Traubenzucker, d. h. mit derjenigen Zuckermenge versetzten Kalkstickstofflösung, wie sie Perotti seiner sogenannten Dicyandiamidlösung beifügte, erhält man allerdings eine sehr vielgestaltige Flora von allerhand Ammon- und Stickstoffassimilanten; diese sind es, die Perotti als Dicyandiamidbakterien angesprochen hat, die es in Wirklichkeit nicht gibt.

d) Der Kalkstickstoff und die Bakterien.

Bekanntlich wirken das Cyanamid sowie dessen Calciumverbindungen sowohl auf die Kulturgewächse wie auf eine große Zahl von Mikroorganismen entschieden nachteilig ein. Fügt man der Erde eine verhältnismäßig starke Kalkstickstoffgabe zu, so ist zunächst lediglich eine Ammoniakbildung wahrzunehmen, während die Nitrifikation so gut wie vollständig sistiert wird. Unsere vorstehend besprochenen Versuche haben es, wie dargelegt wurde, nun sehr wahrscheinlich gemacht, daß das Cyanamid selbst von den Bakterien des Bodens nicht angegriffen wird, cyanamidspaltende Bakterien scheinen nicht zu existieren. Die Organismentätigkeit setzt erst dann ein, wenn eine wenigstens teilweise Harnstoffbildung auf dem oben angegebenen Wege stattgefunden hat.

1) l. c. Bd. XX. p. 516 f.

Es ist danach durchaus verständlich, daß und weshalb sich sämtliche bisher aus den Kalkstickstofflösungen isolierten Bakterien auch zur Harnstoffzersetzung befähigt erwiesen. Trotzdem besteht, wie schon meine ersten Untersuchungen über die Kalkstickstoffzersetzung[1]) lehrten, ein deutlicher Unterschied zwischen den Kalkstickstoffbakterien und den spezifischen Harnstoffzersetzern. Die letzteren sind in hohem Maße, und ganz besonders gilt dies für Urobacillus Pasteurii, widerstandsfähig gegen die Giftwirkung großer Harnstoffmengen, während sie dagegen in der Kalkstickstofflösung durch Cyanamid und Cyanat derart geschädigt werden, daß sie nur eine relativ geringe Ammoniakmenge produzieren. Andererseits sind die eigentlichen Kalkstickstoffbakterien, wie ich früher (l. c.) zeigte, recht empfindlich gegen größere Harnstoffmengen, während sie sich gegen Cyanamid und besonders gegen Cyanat verhältnismäßig resistent erweisen. Zur Vervollständigung unserer früheren Befunde wurden nochmals mit den verschiedenen bei der Kalkstickstoffzersetzung in Frage kommenden Substanzen Umsetzungsversuche eingeleitet; dabei verwendeten wir als Gegenstück zu der Mischkultur der drei kräftigsten Kalkstickstoffbakterien (Bact. Kirchneri, erythrogenes und lipsiense) eine Kultur des Urobacillus Pasteurii, die in 10-proz. Harnstoffbouillon eine intensive Ammoniakbildung veranlaßte. Unter im übrigen gleichen Versuchsbedingungen wurden an Ammoniakstickstoff (in Milligramm) produziert:

	von den Kalkstickstoffbakterien	von Urobacillus Pasteurii
in der Nährlösung mit 0,1 g Eindampfrückstand (41,58 mg N)	25,20	0,70
Nährlösung mit 0,02 g Cyanamid (11,48 mg N) + 30 mg $Ca(OH)_2$ + CO_2	2,03	0,14
Nährlösung mit 0,1 g (ammoniakhaltigem) Kaliumcyanat (16,24 mg N)	11,20	2,38

Die Unterschiede treten wiederum aufs schärfste hervor. Es ist danach ohne weiteres verständlich, weshalb man bei der Kalkstickstoffzersetzung, obwohl auch sie, soweit die Bakterientätigkeit in Betracht kommt, auf eine Harnstoffhydratation hinausläuft, doch nicht der typischen Harnstoffzersetzung begegnet, sondern einer besonderen Gruppe von Mikroorganismen, die wir als Kalkstickstoffbakterien bezeichneten.

Zusammenfassung.

Die vorstehend besprochenen Untersuchungen haben es sehr wahrscheinlich gemacht, daß die Kalkstickstoffzersetzung in der Hauptsache in folgender Weise verläuft: Bei der Lösung der Substanz geht das Calciumcyanamid in die Verbindung $(CN.NH)_2Ca$ über; hieraus wird beim Aufbewahren der Lösung, rascher unter der Einwirkung der Wärme oder der Absorption bezw. Adsorption seitens der Bodenbestandteile unter Kalkabscheidung das Cyanamid frei; dieses wird durch gelinde Säureeinwirkung (Kohlensäurebehandlung) oder durch Erwärmen unter Zusatz von basischen Substanzen (Aetzkalk) zu Ammoniumcyanat verseift, das sich weiterhin in Harnstoff umlagert, der seinerseits durch Bakterien in Ammoncarbonat übergeführt wird.

Eine direkte Einwirkung der Bakterien auf das Cyanamid scheint, in Uebereinstimmung mit Ulpianis Befunden, nicht möglich zu sein.

1) l. c. Bd. XIV. p. 395 ff.

Daß sich in den Kalkstickstofflösungen eine eigenartige Flora von Kalkstickstoffbakterien einstellt, hat seinen Grund darin, daß die betreffenden Arten gegen die Giftwirkung des Cyanamids und des Cyanats verhältnismäßig wenig empfindlich sind.

Das Dicyandiamid wird weder in verdünnter noch in konzentrierter Lösung, auch nicht bei Gegenwart von erdigen Substanzen, von den Bakterien angegriffen. Die gegenteiligen Befunde Perottis sind auf Fehler in der Versuchsanstellung (Verwendung unreiner Präparate) zurückzuführen. Im Boden scheint das Dicyandiamid entgegen einer speziell unter den deutschen Agrikulturchemikern weitverbreiteten Annahme keine Rolle zu spielen. Beweise für das Auftreten dieser Substanz im Boden fehlen vollständig. Die Silberreaktionen sowie die Beobachtungen an Vegetationsversuchen können nicht als ausschlaggebend anerkannt werden.

Für Kalkstickstoffumsetzungsversuche ist es, wenn Erde als Impfmaterial benutzt wird, gleichgültig, ob nicht erhitzte oder erhitzte Lösung zur Verwendung gelangt. Bei der Prüfung von Reinkulturen ist es entschieden zweckmäßiger, im Dampf sterilisierte Lösung zu verwenden; die Behandlung der kalt sterilisierten Lösung mit absorbierenden Substanzen und Kohlensäure führt zum gleichen Ziele, empfiehlt sich aber wegen ihrer Umständlichkeit und Unsicherheit entschieden weniger. Die von Kappen in vollständiger Unkenntnis des Sachverhalts in dieser Hinsicht aufgestellten Behauptungen entbehren jeder Begründung und müssen als durchaus irreführend entschieden zurückgewiesen werden. Da die Gegenwart großer Erdmengen den Prozeß sehr befördert, so kann es unter Umständen empfehlenswert sein, bei der Ausführung von Umsetzungsversuchen mit Erde die Impfmenge noch über die üblichen 10 Proz. hinaus zu erhöhen.

Leipzig, September 1908.

Nachtrag.

Während der Drucklegung der vorstehenden Arbeit erschienen zwei Veröffentlichungen über die Kalkstickstoffzersetzung, auf die hier noch mit einigen Worten eingegangen werden muß.

Prof. Immendorff hielt auf der Naturforscherversammlung in Köln (September 1908) einen Vortrag, in dem er sich, wie aus dem in No. 80 der Chemiker-Zeitung enthaltenen Referate hervorgeht, die Behauptungen Kappens zu eigen machte. Insbesondere hob er hervor, daß meine Versuche nur unter Verwendung erhitzter Lösungen durchgeführt und deshalb zur Erklärung der Vorgänge im Boden unbrauchbar seien. Von den unter Benutzung nicht erhitzter Lösung erlangten, im Frühjahr 1908 veröffentlichten und Immendorff sehr wohl bekannten Versuchsergebnissen wird (in dem Referate wenigstens) mit keiner Silbe gesprochen. Ein an Herrn Prof. Immendorff gesandter Brief, der mir Aufklärung bringen sollte, ob die in dem Referat enthaltenen, mit der wirklichen Sachlage in so schroffem Widerspruch stehenden Angaben tatsächlich dem Vortragenden selbst oder nur einem unachtsamen Referenten zur Last zu schreiben seien, blieb unbeantwortet. Stott dessen wird, wie ich von befreundeter Seite erfahre, unter Immendorffs Namen nun auch in populär gehaltenen, naturwissenschaftlichen Zeitschriften („Umschau") dieselbe unrichtige Darstellung, wie sie in der Chemiker-Zeitung erschien, weiter verbreitet. Meines Erachtens wurde

oben mit hinreichender Deutlichkeit erwiesen, was man von den Kappenschen Angaben, die nun also auch als diejenigen Immendorffs angesehen werden müssen, zu halten hat. Sie werden nicht richtiger, so oft sie auch wiederholt werden mögen; ich meinerseits habe aber weder Zeit noch Lust, mich mit derartigen Publikationen in irgend welcher Weise weiter zu beschäftigen.

Die zweite hier zu nennende Veröffentlichung ist eine umfangreiche Arbeit Ulpianis, die unter dem Titel „Sulla pretesa fermentazione ammoniacale della cianamide" in der Gazetta chimica italiana (Bd. XXXVIII. Teil II) erschien; ich hoffe, in nächster Zeit ein ausführliches Referat hier bringen zu können. Ulpiani kommt gleichfalls zu dem Schluß, daß aus dem Kalkstickstoff zunächst auf physikalisch-chemischem Wege Harnstoff entsteht, den dann die Bakterien zu Ammoniak abbauen. Sehr überraschend war mir aber, daß er damit „meine" Theorie „von der angeblichen ammoniakalischen Fermentation des Cyanamids" glaubt widerlegt zu haben. Nachdem ich in meiner ersten Arbeit über die Kalkstickstoffzersetzung mich lediglich mit der Ammoniakbildung an sich beschäftigt und ausdrücklich die chemische Seite außer Betracht gelassen, in meiner zweiten Veröffentlichung aber gesagt hatte, daß die Angabe Ulpianis richtig sei, d. h. daß das Cyanamid nicht durch Bakterien angegriffen werde, ist es in der Tat schwer begreiflich, wie der genannte Autor, zumal er meine zweite Mitteilung kennt und ausdrücklich erwähnt, dazu kommt, dennoch die Sache so darzustellen, als ob ich die Ansicht verfechte, das Cyanamid werde durch Bakterien zersetzt. Meine vorstehenden Ausführungen werden diesen Irrtum hoffentlich gründlich beseitigen. Sehr eigenartig ist Ulpianis Darstellung auch insofern, als er sagt, ich hätte in meiner zweiten Mitteilung mit aller Bestimmtheit behauptet, in der erhitzten Lösung sei Karbodiimid vorhanden, dieses werde durch die Bakterien angegriffen. Die Hälfte des betreffenden Satzes läßt er weg; wie oben zitiert wurde, hatte jene Hypothese die Richtigkeit der Angaben Perottis über das chemisch-physikalische Verhalten des Eindampfrückstandes zur notwendigen Voraussetzung. Da diese nicht bestätigt werden konnten, fiel naturgemäß auch jene Arbeitshypothese. Irrig ist ferner die Bemerkung Ulpianis, ich hätte bei Beginn meiner Untersuchungen nicht die erforderlichen Vorversuche gemacht zur Ermittelung des Einflusses, den das Erhitzen auf die Kalkstickstofflösung ausübt. Das, was ich für jene Versuche in dieser Hinsicht wissen mußte, wurde selbstverständlich festgestellt, wie ein Blick in den ersten Teil der betreffenden Arbeit lehrt. Ebenso kann sich Ulpiani aus den dort mitgeteilten Zahlen überzeugen, daß bei der Destillation mit Magnesia usta neben den geimpften stets auch sterile Kontrollkolben zur Verwendung kamen; wenn also die Magnesia usta etwas Ammoniak aus den auf physikalisch-chemischem Wege entstandenen Zwischenprodukten abspaltet, so hat sie das in gleicher Weise hier wie dort, damit erfuhr aber auch die Ammoniakzahl in den geimpften Kolben die allerdings erforderliche Reduktion. Wenn schließlich Ulpiani der Bakterientätigkeit bei der Kalkstickstoffzersetzung nur sekundäre Wichtigkeit beimißt, so ist gegen diese durchaus subjektive Meinung an sich wenig einzuwenden; gibt es doch auch genug Leute, die (in der Theorie wenigstens) Pest-, Cholerabakterien und anderen Erregern verheerender Seuchen nur sekundäre Bedeutung zubilligen, da auch sie naturgemäß nur bei Erfüllung aller Existenzbedingungen wirken können. Es steht fest, daß im Boden eine Ammoniakbildung aus Kalkstickstoff an die

Tätigkeit der Bakterien ursächlich geknüpft ist; fehlen diese, oder sind sie (wie nicht selten im Moorboden) in zu geringer Zahl oder in ungeeigneter Beschaffenheit vorhanden, so kommt der Kalkstickstoff nicht oder nur ungenügend zur Wirkung. Daß es sich dabei nicht, wie Ulpiani glaubt, um beliebige Harnstoffzersetzer handelt, wurde oben erneut dargelegt; es ergibt sich das außerdem auch daraus, daß die mit Hilfe entsprechender Umsetzungsversuche ermittelten Intensitätskurven für die Ammoniakbildung aus Harnstoff bezw. aus Kalkstickstoff zwar einander ähneln, aber doch auch in wesentlichen Punkten differieren. Im übrigen ist auch Ulpiani wie Perotti jetzt noch der Ansicht, daß das Dicyanamid als Stickstoffdünger brauchbar sei, während aber die beiden italienischen Autoren früher der Ansicht waren, daß überhaupt bei der Kalkstickstoffdüngung alles auf eine primäre Dicyandiamidbildung ankomme, steht, wie gesagt, Ulpiani jetzt auf dem Standpunkte, daß die Wirkung des genannten Düngemittels hauptsächlich auf einer primären Harnstoffbildung mit nachfolgender Ammoniakbildung beruht; das Dicyandiamid soll nur von den Bodenorganismen assimiliert und so allmählich nutzbar werden. Wie oben gezeigt wurde, hat diese, von Perotti entlehnte Theorie sehr wenig für sich.

Die chemischen Veränderungen des Kalkstickstoffes bei der Düngung.

[Mitteilung aus der Agrikulturchemischen Abteilung der landwirtschaftlichen Versuchsstation an der Universität Jena.]

Von Dr. **Hubert Kappen**, I. Assistent.

Die Meinungsverschiedenheiten, die zwischen Löhnis und mir über den Einfluß des Sterilisierens auf Lösungen von Kalkstickstoff bestehen, lassen es angebracht erscheinen, auch an dieser Stelle einmal auf die chemischen Verbindungen hinzuweisen, die bei der Düngung mit Kalkstickstoff und Stickstoffkalk im Ackerboden entstehen können. Zwar sind erst kürzlich hier von Perotti[1]) in der Einleitung zu seiner Arbeit „Ueber die Dicyandiamidbakterien" einige Mitteilungen über die chemischen Veränderungen des Calciumcyanamids gemacht worden; sie sind jedoch unvollständig und führen zu der falschen, von Perotti aber offenbar immer noch nicht aufgegebenen Vorstellung, daß das Dicyandiamid bei der Düngung mit Kalkstickstoff eine bedeutende Rolle spiele. Die Perottischen Mitteilungen machen also eingehendere und auf eigenen chemischen Nachprüfungen und Untersuchungen fußende Erörterungen über diesen Gegenstand nicht überflüssig. Im besonderen aber erhoffe ich von den im folgenden mitgeteilten Ergebnissen meiner Untersuchungen, daß sie die Richtigkeit meines Standpunktes gegenüber dem von Löhnis in dieser Sache vertretenen darlegen werden. Zu diesem Zwecke sollen die Ansichten von Löhnis den meinigen gegenübergestellt und ihre Widerlegung versucht werden. Dabei halte ich jedoch eine Beschränkung auf die Hauptgegensätze für unbedingt erforderlich;

1) Centralbl. f. Bakt. Bd. XXI. No. 7—8. p. 200.

denn die kleinliche Behandlung von Unwichtigkeiten würde schließlich nur zu einem nutzlosen Wortgefecht führen, mit welchem dem Fortschritte unserer Kenntnisse über den Kalkstickstoff in keiner Weise gedient ist.

Allgemein nimmt man an, daß im Kalkstickstoff und Stickstoffkalk die Verbindung Calciumcyanamid CN·NCa enthalten ist. Die chemischen Veränderungen dieser Substanz unter dem Einflusse der im Boden wirksamen Faktoren, Wasser, Kohlensäure und Absorptionskraft, sind also an dieser Stelle einer Betrachtung zu unterwerfen.

Nach den Untersuchungen von Drechsel[1]) und Meyer[2]), die auf Veranlassung von Prof. Immendorff von mir schon vor mehreren Jahren auf ihr Zutreffen für das technische Calciumcyanamid, den Kalkstickstoff, eingehend geprüft und für unantastbar befunden sind, bildet sich beim Zusammenkommen von Calciumcyanamid mit Wasser unter Abspaltung eines Teiles der Base eine weniger basische Verbindung, die kurz als das „einbasische Salz" bezeichnet werden mag. Die Umsetzung erfolgt nach der folgenden Gleichung:

$$2\,CN \cdot NCa + 2\,H_2O = (CN \cdot NH)_2Ca + Ca(OH)_2$$

Die nämliche Substanz bildet sich also auch beim Zusammentreffen von Kalkstickstoff oder Stickstoffkalk mit Wasser. Man kann sie aus dem Kalkstickstoff darstellen, indem man eine konzentrierte wässerige Ausschüttelung von Kalkstickstoff im Vakuum über wasserentziehenden Mitteln möglichst schnell einengt oder im Vakuum destilliert, wobei sie sich in feinen, stark doppelbrechenden Kriställchen abscheidet. Daß man es auch bei der Düngung mit derselben Verbindung zu tun haben wird, wenn auf den Kalkstickstoff das Bodenwasser einwirkt, dürfte wohl ein Schluß sein, gegen den nichts einzuwenden ist, und es ergibt sich daher die weitere Frage, wie nun die beiden anderen genannten Faktoren, die Kohlensäure und die Absorptionskraft, auf diese Verbindung einwirken.

Zum Teil kann ich mich bei meinen Angaben über die Einwirkung der Kohlensäure noch auf die Autorität von Drechsel und Meyer stützen, von denen festgestellt wurde, daß eine Lösung von Calciumcyanamid, wie auch der übrigen Erdalkali- und Alkaliverbindungen des Cyanamids beim Einleiten von Kohlensäure unter Bildung von Salzen der im freien Zustande nicht existierenden Cyanamidokohlensäure und von Cyanamid zersetzt wird, der Umsetzungsgleichung entsprechend:

$$(CNNH)_2Ca + CO_2 = C_2N_2O_2Ca + CN \cdot NH_2$$

Auch aus konzentrierten Lösungen von Kalkstickstoff scheidet sich dieses Salz beim Einleiten von Kohlensäure in feinen Kristallnadeln ab. Es ist in feuchtem Zustande sehr leicht zersetzlich und zerfällt darin schon beim schwachen Erwärmen in kohlensauren Kalk und Cyanamid. Auf dieser Reaktion beruht die von Drechsel angegebene und von mir stets zur Darstellung von Cyanamid aus dem Kalkstickstoff benutzte Methode: Man leitet in die alkalisch reagierende Kalkstickstofflösung Kohlensäure bis zur neutralen oder sauren Reaktion ein, erhitzt die Lösung mitsamt dem Niederschlage bis zum Sieden, filtriert und dampft das Cyanamid enthaltende Filtrat unter Zusatz von einem Tropfen konzentrierter Essigsäure zur Verhinderung der Polymerisation in flachen

1) Journal f. prakt. Chemie. N. F. Bd. XI. p. 209, Bd. XVI. p. 201, Bd. XXI. p. 77.

2) Dasselbe Journal. Bd. XVIII. p. 419.

Schalen soweit ein, bis ein Tropfen der Lösung auf einem Uhrglase beim Reiben kristallinisch erstarrt. Man nimmt dann den erkalteten Inhalt der Schale mit Aether auf und kristallisiert das aus der ätherischen Lösung erhaltene Cyanamid nochmals aus Aether um.

Ob nun auch im Boden unter dem Einflusse der Kohlensäure cyanamidokohlensaurer Kalk entsteht, erscheint mir auf Grund mehrfach gemachter Beobachtungen fraglich. Beim Einleiten von Kohlensäure in verdünnte Kalkstickstofflösungen scheidet sich nämlich kein cyanamidokohlensaurer Kalk, sondern gleich kohlensaurer Kalk ab, und da man nun bei der im Vergleiche zu anderen wasserlöslichen Düngemitteln nur geringen Löslichkeit des Calciumcyanamids voraussichtlich mit nur sehr verdünnten Lösungen im Boden zu rechnen hat, so tritt hierin wahrscheinlich unter dem Einflusse der Kohlensäure gleich eine vollkommene Zersetzung der Verbindung $(CN \cdot NH)_2Ca$ in kohlensauren Kalk und Cyanamid ein.

Zur Bildung von freiem Cyanamid führt nun auch die Absorptionskraft des Bodens. Aus meiner Arbeit „Ueber die Absorption des Kalkstickstoffes im Ackerboden"[1]) seien folgende Beispiele für die Absorptionswirkung verschiedener Bodenarten auf Kalkstickstofflösungen angeführt. 200 g Boden wurden bei diesen Versuchen mit 250 ccm Kalkstickstofflösung in einem 500 ccm-Kolben zusammengebracht, öfter in gleichmäßiger Weise umgeschüttelt und nach Verlauf einer Stunde wieder abfiltriert. Im Filtrat und in der ursprünglichen Lösung wurde der Kalk und der Stickstoff bestimmt, und zwar der Stickstoff mit Hilfe der hier schon früher[2]) angegebenen Titrationsmethode für Cyanamid. Die in der Tabelle I angeführten Zahlen zeigen den Gehalt von 25 ccm der Kalkstickstofflösung an Calcium und Stickstoff vor und nach Einwirkung der Bodenproben an.

Tabelle I.

25 ccm der Lösung oder der Filtrate enthalten	Calcium	Cyanamidstickstoff
Lösung	39,83 mg	46,57 mg
Filtrat vom Sandboden	32,30 „	45,62 „
Filtrat vom sandigen Lehmboden	22,57 „	44,52 „
Filtrat vom reinen Lehmboden	15,54 „	45,07 „

Man erkennt aus diesen Zahlen, daß die Absorption des Calcium vom Sandboden zum Lehmboden um 50 Proz. wächst, während die Stickstoffabsorption überhaupt unbedeutend ist. Die Verbindung $(CN \cdot NH)_2Ca$ erfährt demnach eine Zerlegung, und da der Stickstoff nach der Absorptionswirkung der Böden noch als Cyanamidstickstoff zugegen ist und für den absorbierten Kalk kein Austausch anderer Basen, etwa Kali oder Natron, stattgefunden hat, so ist der Stickstoff nach der Absorption teilweise, soviel nämlich als dem absorbierten Calcium entspricht, in der Form von freiem Cyanamid vorhanden. Diese Wirkung der Absorptionskraft führt im Verein mit der Wirkung der Kohlensäure dazu, daß bei der Düngung mit Kalkstickstoff in absorptionskräftigen Böden sehr schnell der ganze mit der Düngung hineingebrachte Stickstoff sich in der Form ungebundenen Cyanamids vorfindet; in weniger absorptionskräftigen

1) Landw. Versuchsstationen. Bd. LXVIII. 1908. p. 301.
2) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XX. p. 711.

Böden wird weniger Cyanamid gebildet und in Böden mit sehr geringer Absorptionskraft kommt für die Bildung von Cyanamid endlich fast nur noch die nur allmählich von statten gehende Wirkung der Kohlensäure in Betracht. Da nun nach meinen Umsetzungsversuchen das ungebundene Cyanamid am schnellsten von allen Kalkstickstoffverbindungen der Umwandlung durch Bakterien in Ammoniak anheimfällt, so dürfte der Zusammenhang zwischen der Absorptionskraft der Ackerböden und ihrer Befähigung zur Kalkstickstoffumwandlung völlig aufgeklärt sein. Daß schließlich auch mit dem Fehlen oder Zurücktreten der Absorptionswirkungen und der dadurch herbeigeführten Verzögerung der Umwandlung des Kalkstickstoffes in Pflanzennahrung die schädigenden Wirkungen des Kalkstickstoffes auf Keimung und erstes Wachstum der Pflanzen eng verbunden sind, ist schon in meiner Arbeit über die Absorption des Kalkstickstoffes betont worden und wird später noch nähere Erläuterungen finden.

Mit der Cyanamidbildung unter dem vereinigten Einflusse von Wasser, Kohlensäure und Absorption ist aber die chemische Veränderung des Kalkstickstoffes noch nicht in jedem Falle beendigt. Trifft nämlich einmal die Cyanamidbildung in einem Boden mit einer geringen Bakterientätigkeit zusammen, was bei sehr bakterienarmem Sandboden und saurem Moorboden, ebenso auch dann der Fall sein kann, wenn der Bakterienbestand eines sonst wohl zur Umsetzung befähigten Bodens durch eine zu starke Gabe des Düngemittels gelitten hat, so ist dem freien Cyanamid Gelegenheit gegeben, in die polymere Form, das Dicyandiamid, überzugehen. Dieses wirkt im Gegensatz zu dem stark giftigen Cyanamid nicht mehr schädlich auf die Keimung und das erste Wachstum der damit gedüngten Pflanzen, ruft aber, da es von den Bakterien nicht in Ammoniak übergeführt und auch im Boden nur in geringem Grade absorbiert wird, in einem schon vorgeschritteneren Entwickelungsstadium der Pflanzen eine Erkrankung hervor, die sich in typischer Weise durch das Weißwerden der Blattspitzen und Blattränder kundgibt. Der Verlauf der Erkrankung scheint wesentlich von den sonstigen Ernährungsbedingungen der Pflanzen abhängig zu sein, denn während kräftiger entwickelte Pflanzen oft kaum geschädigt werden, gehen auf dem nämlichen Boden schwächere Pflanzen daran zugrunde. Auch physikalische Bodeneigenschaften beeinflussen die Wirkung der Dicyandiamiddüngung, wenigstens glaube ich die Tatsache, daß bei Topfversuchen die Dicyandiamiderkrankung viel später auf Lehmboden, als auf Sandboden eintritt, darauf zurückführen zu dürfen, daß die schädliche Konzentration der Dicyandiamidlösung in den oberen Bodenschichten schneller im Sandboden als im Lehmboden erreicht wird. Gegenüber den von Perotti[1]) bei Düngungsversuchen mit Dicyandiamid erzielten Ergebnissen mag hier aber auch nochmals betont werden, daß bei vielfach wiederholten Versuchen am hiesigen Institute niemals eine Düngerwirkung mit Dicyandiamid erzielt worden ist.

Entschieden förderlich wirkt auf den Uebergang des Calciumcyanamids in Dicyandiamid die Zufuhr von Wärme. Die in der wässerigen Lösung des Kalkstickstoffes vorhandene Verbindung $(CNNH)_2Ca$ beginnt nämlich schon bei 40° sich unter Abscheidung eines aus Calciumhydroxyd bestehenden Kristallpulvers zu zersetzen, wobei das wohl zunächst entstandene Cyanamid in Dicyandiamid

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1907. p. 50.

übergeht. Bei der Düngung mit Kalkstickstoff wird diese Art der Entstehung von Dicyandiamid jedoch kaum eine Rolle spielen können, weil die Düngung nie zu einer Zeit vorgenommen wird, in welcher der Boden durch Sonnenbestrahlung eine so hohe Temperatur annehmen kann; sicher verdient diese Möglichkeit der Dicyandiamidbildung aber bei Vegetationsversuchen in Gefäßen, besonders wenn sie in schon vorgeschrittener Jahreszeit angestellt werden, Beachtung.

Mit der Dicyandiamidbildung, die also, wie nochmals hervorgehoben werden mag, in der landwirtschaftlichen Praxis nur beim Vorhandensein ganz abnormer bakterieller Bodenverhältnisse und deshalb wohl im allgemeinen nur recht selten eintreten kann, ist die letzte der hier in Betracht kommenden rein chemischen Veränderungen des Kalkstickstoffs genannt. Ueber den Verlauf der weiteren Umwandlung, die das dafür ja eigentlich ausschließlich in Rücksicht zu ziehende Cyanamid durch die Tätigkeit der Bakterien erleidet, bis wir es als Ammoniak oder Salpetersäure im Boden wiederfinden, können bisher nur Vermutungen gehegt werden. Die Tatsache, daß das Cyanamid unter dem Einflusse gespannten Wasserdampfes in Harnstoff und dann in Ammoniak oder vielmehr Ammoniumkarbonat übergeht, hat Veranlassung zu der Annahme gegeben, daß auch der Umwandlungsprozeß des Kalkstickstoffes in der nämlichen Weise über Harnstoff zu Ammoniak führe; Beweise dafür sind jedoch bislang nicht beigebracht worden, denn auch die Tatsache, daß die von Löhnis aus seinen durch Sterilisieren zersetzten Kalkstickstofflösungen isolierten Bakterien zur Vergärung des Harnstoffes befähigt waren, ist als Beweis nicht anzusehen, solange der wichtigere noch dafür aussteht, daß sie in Wirklichkeit zur Umwandlung des Cyanamids geeignet sind.

Wenn ich nun jetzt ein Bild davon zu entwerfen versuche, wie Löhnis sich die chemischen Veränderungen des Kalkstickstoffes im Ackerboden bis zum Einsetzen der Bakterientätigkeit vorstellt, so weiß ich sehr wohl, daß ich damit keine leichte Aufgabe übernehme; denn Löhnis hat seine Ansichten bisher weder in lückenlosem Zusammenhange ausgesprochen, noch nach meinem Ermessen genügende Begründung für das gegeben, was er bisher geäußert hat. Einiges über die Anschauungen Löhnis' in dieser Sache ist in dem in Fühlings landwirtschaftlicher Zeitung mitgeteilten Referate über Löhnis' und Sabaschnikoffs „Neue Untersuchungen über die Zersetzung und die Wirkung von Kalkstickstoff und Stickstoffkalk“ [1]) enthalten, anderes in der ebenfalls von den Genannten gemeinschaftlich im Centralblatt veröffentlichten Mitteilung „Ueber die Zersetzung von Kalkstickstoff und Stickstoffkalk. II“ [2]), manches ist auch in der Dissertation [3]) von Sabaschnikoff, der die nämlichen Versuche zugrunde liegen, wie den beiden gemeinschaftlichen Mitteilungen, zu finden. Erst das Studium aller drei Veröffentlichungen hat mich zu einer, wie ich hoffe, klaren Erkenntnis des Standpunktes von Löhnis geführt, und zwar hat viel dazu die Dissertation Sabaschnikoffs beigetragen, was vielleicht darin begründet liegt, daß hier von der in den Referaten wohl angebrachten Knappheit des Ausdruckes abgesehen und eingehendere Beschreibungen sowohl der Versuche als auch der daraus gezogenen Schlußfolgerungen

1) Fühlings landw. Zeitung. Jahrg. LVII. Heft 1. p. 15.
2) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XX. p. 322.
3) Mitteilungen des landw. Instituts der Universität Leipzig. Heft 9.

gegeben werden konnten. Bei der Zusammenstellung und versuchten Widerlegung der sich aus den drei angeführten Schriften ergebenden Ansichten Löhnis' über die chemischen Veränderungen des Kalkstickstoffes erscheint es mir aber zweckmäßig, die umgekehrte Reihenfolge wie bei der Aufstellung meiner Annahmen einzuhalten. In der von mir zuletzt geäußerten Ansicht über die Dicyandiamidbildung liegt nämlich der Schwerpunkt aller unserer Meinungsverschiedenheiten.

Löhnis bestreitet die Möglichkeit einer Dicyandiamidbildung durchaus. In Fühlings landwirtschaftlicher Zeitung[1]) heißt es, daß weder unter dem Einflusse der Kohlensäure, noch beim Aufbewahren oder beim Erwärmen der Kalkstickstofflösung Dicyandiamid entsteht und ähnliche Behauptungen werden im Centralblatt für Bakteriologie[2]) wiederholt. Sieht man zunächst von den beiden ersten Teilen der Behauptung, welche die Einwirkung der Kohlensäure und des Aufbewahrens auf Kalkstickstofflösungen betrifft, ganz ab und betrachtet nur den dritten Teil, der sich auf die Wirkung des Erwärmens bezieht, so fällt die große Unstimmigkeit auf zwischen diesem Teile der Behauptung und dem, was Löhnis sonst über die Wirkung des Erwärmens von Kalkstickstofflösungen bekannt war. Löhnis gibt nämlich zu, daß

1) die Cyanidgesellschaft das Dicyandiamid durch Auslaugen von Kalkstickstoff mit heißem Wasser und Kristallisierenlassen der Lösung herstellt,

2) daß Perotti aus erwärmten Kalkstickstofflösungen eine Substanz mit allen Eigenschaften des Dicyandiamids erhalten hat und

3) daß sein eigener Mitarbeiter Sabaschnikoff beim Eindampfen einer Kalkstickstofflösung auf dem Wasserbade bei 60° eine Substanz gewonnen hat, welche die nämlichen Reaktionen gab, wie das durch die Genannten von der Cyanidgesellschaft bezogene Dicyandiamid[3]).

So nahe hiernach eigentlich der Schluß auf den tatsächlichen Eintritt einer Dicyandiamidbildung beim Erwärmen von Kalkstickstofflösungen lag, behauptet Löhnis das Gegenteil, und zwar tut er das deswegen, weil er beobachtet hatte, daß in der Lösung der beim Eindampfen der Kalkstickstofflösung gewonnenen Substanz, wie auch in anderen nur erhitzten Kalkstickstofflösungen nach der Beimpfung mit Erde Ammoniak gebildet wurde. Wie aus allen drei Mitteilungen entnommen werden kann, hat diese Ammoniakbildung Löhnis und Sabaschnikoff als voller Gegenbeweis gegen die Entstehung von Dicyandiamid gegolten; denn da Dicyandiamid ja eine Substanz ist, die durch Bakterien nicht in Ammoniak übergeführt werden kann, so konnte eben nach der Schlußfolgerung der Genannten kein Dicyandiamid in den Ammoniak enthaltenden Lösungen vorhanden sein. Der offensichtliche Widerspruch, der zwischen der Feststellung der Ammoniakbildung in den beimpften Lösungen und der Bildung eines Körpers mit den Eigenschaften des Dicyandiamids beim Eindampfen der Kalkstickstofflösungen hervortritt und der leicht durch die richtige Annahme hätte gelöst werden können, daß es sich in den Lösungen um zwei verschiedene Verbindungen, unzersetzbares Dicyandiamid neben einer in Ammoniak umwandelbaren Verbindung handle, veranlaßt Löhnis nun zur Aufstellung

1) Jahrg. LVII. p. 18.
2) Bd. XX. p. 322.
3) Man vergleiche die Dissertation Sabaschnikoffs. p. 19.

der folgenden Hypothese. „Sind im übrigen, so heißt es in Fühlings landwirtschaftlicher Zeitung (p. 21), „Perottis Angaben zutreffend, so daß also bei physikalisch-chemischer Prüfung jene zuerst entstehende leicht zersetzliche Substanz mit dem für die Bakterien äußerst schwierig oder überhaupt nicht angreifbaren Dicyandiamid übereinstimmt, so dürfte wohl kaum zu bezweifeln sein, daß es sich hier, da echtes Dicyandiamid sicher nicht vorliegt, um die isomere Verbindung Dicarbimid handelt, die nur nachträglich verhältnismäßig leicht in Dicyandiamid überzugehen scheint." Hiernach nimmt Löhnis also nichts Geringeres als die Möglichkeit an, daß es Verbindungen gibt, die sich bei physikalischer und chemischer Prüfung als identisch mit einer anderen erweisen und dabei doch von dieser Verbindung verschieden sein können. Einer Widerlegung bedarf diese Annahme einer ganz neuen Art von Isomerie, bei der Verbindungen völlig übereinstimmen bis auf ihr Verhalten gegenüber den Bakterien, wohl kaum; auch hier nochmals den chemischen Beweis für die wohl nur von Löhnis bezweifelte Tatsache der Bildung „echten Dicyandiamids" beim Erwärmen alkalischer Cyanamidlösungen anzutreten, erscheint durchaus unnötig, zwei Versuche mögen aber doch noch ihren Platz hier finden, aus denen hervorgeht, daß auch die „Bakterien als Analytiker" nichts gegen die, wie schon kürzlich von mir hervorgehoben[1]), primäre Bildung von Dicyandiamid beim Erwärmen von Kalkstickstofflösungen einzuwenden haben.

Bei dem ersten Versuche wurde in Anlehnung an das von Perotti eingehaltene Verfahren ca. 50 g Kalkstickstoff mit 250 ccm destilliertem Wasser von 60° C einige Zeit digeriert und die filtrierte Lösung auf dem Wasserbade eingedampft. Der breiige, noch etwa den vierten Teil der Lösung enthaltende Rückstand wurde mit etwas Wasser übergossen, noch einige Minuten auf dem Wasserbade gehalten und dann die Lösung von dem ausgeschiedenen Calciumhydroxyd durch Filtrieren getrennt. Aus dem Filtrat schieden sich beim Erkalten lange Kristallnadeln aus, die der Lösung entnommen, mit Alkohol und Aether gewaschen und an der Luft getrocknet wurden. Diese Substanz, die sicherlich nicht durch die „weiteren Manipulationen", Umkristallisieren und Trocknen, verändert war, hätte nun eigentlich nach Löhnis' Hypothese Dicarbotetrimid, bezw. nach Löhnis' Vorschlage kürzer ausgedrückt, Dicarbimid, die dem Dicyandiamid isomere Verbindung mit der Bindung des Stickstoffes in Imidform sein müssen; sie zeigte die kristallographischen und optischen Eigenschaften des Dicyandiamids, ferner den Schmelzpunkt des Dicyandiamids, gab die gleiche Silberreaktion und dieselbe Reaktion beim Erhitzen an der Luft und enthielt schließlich auch wie das Dicyandiamid 66,6 Proz. Stickstoff. Eine abgewogene Menge der Substanz wurde in Wasser gelöst und auf 100 g eines in kleine Kölbchen gefüllten Lehmbodens gebracht und ebensolche Kölbchen wurden zum Vergleiche mit Cyanamidlösung beschickt; in beiden Reihen betrug der zugesetzte Stickstoff 33 mg. Den Verlauf der Bakterieneinwirkung auf die beiden Substanzen zeigt Tabelle II, die in Milligrammen die Menge des gebildeten Ammoniaks angibt.

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XX. p. 704.

Tabelle II.

Zeit der Untersuchung	Substanz aus der Kalkstickstofflösung	Cyanamid
nach 2 Tagen	0,67 mg = 2,01 Proz.	26,16 mg = 79,7 Proz.
nach 4 Tagen	0,65 mg = 1,9 „	28,32 mg = 86,3 „
nach 6 Wochen	0,86 mg = 2,6 „	nicht weiter verfolgt

Während der Versuch die von mir schon eingangs in ihrer Bedeutung gekennzeichnete schnelle Umwandlungsfähigkeit des Cyanamids bestätigt, zeigt er, daß die aus der Kalkstickstofflösung gewonnene Verbindung selbst nach 6 Wochen keine nennenswerte Veränderungszunahme erfahren hat. Im Verein mit den angegebenen physikalischen und chemischen Eigenschaften beweist die Widerstandsfähigkeit der in Frage stehenden Substanz, daß sie aus nichts anderem besteht, wie aus reinem, echten Dicyandiamid; die Bakterien als Analytiker haben sich also hiernach ebenfalls für die Bildung von Dicyandiamid beim Erhitzen von Kalkstickstofflösungen entschieden. Der zweite Versuch, bei dem alle Manipulationen, auch sogar die freiwillige Ausscheidung des Dicyandiamids aus der erhitzten Lösung, durchaus vermieden wurden, beweist dasselbe.

50 g Kalkstickstoff wurden hierbei mit 500 ccm destilliertem Wasser eine halbe Stunde lang geschüttelt und je 100 ccm der filtrierten Lösung in 3 Glasschalen gefüllt. Von diesen Schalen wurde eine auf der Platte des Wasserbades stehend bei einer Temperatur von 60—70° C, die zweite in gewöhnlicher Weise in die Oeffnung des Wasserbades gesetzt bei 85—90° C bis zur Verdunstung von etwa 75 ccm der Lösungen erhitzt; bei der dritten ebenfalls im Wasserbade erhitzten Schale wurde das verdunstete Wasser dreimal ersetzt. Nach dieser verschiedenen Behandlung auf dem Wasserbade wurden die Lösungen, in denen sich wohl Calciumhydroxyd, aber noch kein Dicyandiamid abgeschieden hatte, in 200-ccm-Kölbchen übergespült und filtriert; ebenso wurden 100 ccm der ursprünglichen, also nicht erhitzten Kalkstickstofflösung auf 200 ccm mit Wasser verdünnt und nun in je 10 ccm der 4 Lösungen nach der Titrationsmethode mit Silbernitrat der Gehalt an Cyanamidstickstoff und nach Kjeldahl der Gesamtstickstoff bestimmt. Danach erhielten

10 ccm der ursprünglichen Lösung	65,38 mg Cyanamid-N,	68,01 Ges.-N
10 „ der bei 60—70° eingedampften Lösung	2,52 „ „	66,80 „
10 „ der bei 85—90° eingedampften Lösung	1,86 „ „	66,19 „
10 „ der bei 85—90° dreimal eingedampften Lösung	1,91 „ „	63,79 „

Die Zahlen zeigen, daß, während der Gesamtstickstoff im höchsten Falle bei dem dreimaligen Eindampfen um ca. 4 mg abgenommen hat, der Cyanamidstickstoff in derselben Weise, wie ich es für das Sterilisieren der Kalkstickstofflösungen im strömenden Dampfe nachgewiesen habe[1]), zerstört ist. Diejenige Substanz, die bei der Düngung mit Kalkstickstoff den Bakterien im Ackerboden zur Zersetzung angeboten wird, war also nicht mehr vorhanden, dafür gaben aber alle drei erhitzten Lösungen die charakteristische Reaktion des Dicyandiamids mit Silbernitrat und auch mikroskopisch konnten durch Verdunstenlassen

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XX. p. 704.

einiger Tropfen der Lösungen mit Sicherheit Dicyandiamidkristalle nachgewiesen werden. Der Stickstoff dieser Lösungen durfte daher auch, wenn meine Beobachtungen richtig waren und echtes Dicyandiamid in den Lösungen vorlag, unter keinen Umständen in ähnlichem Grade durch Bakterien in Ammoniak umgewandelt werden, wie der Stickstoff der ursprünglichen, nicht erhitzten Lösung. Die Resultate des mit den verschieden behandelten Lösungen ausgeführten Umsetzungsversuches gaben nun für die Richtigkeit meiner Beobachtungen den besten Beweis.

Je 5 ccm der ersten drei Lösungen — die vierte dreimal im Wasserbade eingedampfte Lösung verunglückte leider — wurden auf 100 g eines in Kölbchen eingewogenen Lehmbodens gegeben, der Boden, um Verdunstung des an der Oberfläche gebildeten Ammoniaks zu verhüten, noch mit weiteren 25 g Boden bedeckt und mit soviel Wasser versetzt, daß der Gehalt daran 22 Proz. betrug. Von den in den Kölbchen enthaltenen 32—34 mg Stickstoff wurden die in Tabelle III angegebenen Mengen in Ammoniakstickstoff umgewandelt.

Tabelle III.

Zeit der Untersuchung	Nicht erhitzte Lösung	Bei 60—70° eingedampfte Lösung	Bei 85—90° eingedampfte Lösung
nach 4 Tagen	21,55 mg N	9,63 mg N	11,85 mg N
„ 5 „	22,78 „ „	9,23 „ „	11,08 „ „
„ 6 „	23,35 „ „	verunglückt	11,08 „ „
„ 10 „	23,89 „ „	9,08 mg N	11,08 „ „
„ 16 „	24,48 „ „	10,83 „ „	11,57 „ „
„ 2½ Monaten	21,66 „ „	10,98 „ „	12,71 „ „

Man erkennt, daß der Stickstoffumsatz in den mit den eingedampften Kalkstickstofflösungen versetzten Kölbchen bedeutend hinter den mit nicht veränderter Lösung beschickten Kölbchen zurückgeblieben ist und zwar, wenn man die Zahlen des Stickstoffumsatzes nach 16 Tagen der Rechnung zugrunde legt, um 55 und 52 Proz. Nach 2½ Monaten hat sich das Verhältnis etwas verschoben; für die nicht erhitzte Lösung ist die Menge des abdestillierbaren Ammoniakstickstoffes etwas zurückgegangen; für die bei 60—70° erhitzte ist sie nicht verändert und für die bei 85—90° erhitzte Lösung hat sie noch etwas zugenommen; immerhin sind die Veränderungen des Ammoniakstickstoffes bei so lange währender Versuchsdauer ganz merkwürdig gering, doch soll an dieser Stelle auf die Gründe dafür, die in das Gebiet der Giftwirkungen des Kalkstickstoffes gehören, nicht näher eingegangen werden. Mit unzweifelhafter Deutlichkeit geht jedenfalls aus dem mitgeteilten Versuche hervor, daß das Erhitzen von Kalkstickstofflösungen durchaus nicht vorteilhaft für den Stickstoffumsatz durch Bakterien sein muß; ferner dürfte es außer Frage stehen, daß in dem vorliegenden Falle allein das chemisch und mikroskopisch bewiesene Vorhandensein von Dicyandiamid in den erhitzten Lösungen das Zurückbleiben der Ammoniakbildung bewirkt hat.

Gegen die beiden mitgeteilten Umsetzungsversuche wird Löhnis nun vielleicht wieder den Vorwurf erheben, daß in ihnen ein „Verstoß gegen die Grundsätze wissenschaftlichen Arbeitens“ liege und, wie er es

früher getan hat [1]), wird er von mir verlangen, daß ich seine Versuche genau in der von ihm eingehaltenen Weise nachprüfen solle. Dieser Vorwurf und dieses Verlangen würden vollkommen gerechtfertigt sein, wenn ich mit meinen Versuchen überhaupt eine Nachprüfung der Löhnisschen Versuche beabsichtigt hätte; das hat mir damals aber noch fern gelegen. Eine Nachprüfung von Versuchen setzt nach meinem Ermessen nämlich voraus, daß der Richtigkeit der bei den fraglichen Versuchen gewonnenen Resultate Zweifel entgegengebracht werden; an der Richtigkeit der von Löhnis erhaltenen Resultate habe ich aber nie einen Zweifel geäußert, sondern halte dieselben für ebenso sicher, als wenn ich selbst die Versuche ausgeführt hätte. Es war aber die Methode, die Löhnis bei seinen Untersuchungen zur Anwendung gebracht hat, der ich zweifelnd gegenüberstand, und um die Berechtigung dazu zu beweisen, war es nicht nur kein Verstoß gegen die Grundsätze wissenschaftlichen Arbeitens, sondern direkte Notwendigkeit, eine Versuchsanordnung zu wählen, der voraussichtlich die Mängel der Methode Löhnis' nicht anhaften würden. Neben dieser besseren Methode auch noch die von Löhnis benutzte zur Anwendung zu bringen, wäre demnach nichts anderes als eine Verschwendung von Zeit und Arbeit gewesen.

Einfacher als die im Vorstehenden hoffentlich endgültig erledigte Behauptung, daß beim Erhitzen von Kalkstickstofflösungen kein Dicyandiamid entstände, läßt sich die widerlegen, daß auch beim Stehenlassen solcher Lösungen Dicyandiamid nicht gebildet würde. Gibt man nämlich zu, daß diejenige Substanz, die die chemischen und physikalischen Eigenschaften des Dicyandiamids besitzt, auch wirklich „echtes" Dicyandiamid und nicht etwa die sehr hypothetische Verbindung Dicarbotetrimid ist, so ist der Beweis für die Bildung von Dicyandiamid beim Aufbewahren von Kalkstickstofflösungen sehr einfach, denn man hat nur eine längere Zeit gestandene Kalkstickstofflösung mit Salpetersäure anzusäuern und mit Silbernitrat zu versetzen, um eine deutliche Reaktion auf Dicyandiamid zu erhalten. Diese Bildung des Dicyandiamids beim Aufbewahren von Kalkstickstofflösungen geht in konzentrierten Lösungen etwas anders vor sich als in verdünnten; in konzentrierten Lösungen scheidet sich nämlich die schwerlösliche Verbindung $CN \cdot N(CaOH)_2 + 6 H_2O$ ab, wobei zugleich nach der Umsetzungsgleichung

$$2 (CN \cdot NH)_2 Ca + 2 H_2O = CN \cdot N(CaOH)_2 + 3 CN \cdot NH_2$$

Cyanamid gebildet wird, welches unter dem Einflusse der alkalischen Lösung allmählich in Dicyandiamid übergeht, in verdünnten Lösungen kommt es dagegen nicht zur Bildung dieser Kalkverbindung, sondern hier scheidet sich gleich kristallisiertes Calciumhydroxyd aus, während das ganze Cyanamid in Lösung bleibt und dann ebenfalls der allmählichen Polymerisation unterliegt.

Von Löhnis wird nun fernerhin noch die Entstehung von Dicyandiamid unter dem Einflusse der Kohlensäure in Abrede gestellt, und zwar, wie aus seinen Worten zu entnehmen ist, im Gegensatze zu meiner Anschauung über die Wirkung dieser Säure. Hier mag aber nun hervorgehoben werden, daß von mir bisher eine solche Ansicht noch nicht geäußert worden ist. In meiner von Löhnis kritisierten ersten Arbeit über Kalkstickstoff [2]) heißt es bereits ausdrücklich, daß durch die Ein-

1) Fühlings landw. Ztg. Bd. LVII. Heft 1.
2) Fühlings landw. Ztg. Jahrg. LVI. p. 122.

wirkung von Kohlensäure auf eine Kalkstickstofflösung neben Cyanamid cyanamidokohlensaurer Kalk entsteht, was allerdings, wie eingangs schon angegeben, insoweit jetzt einer Einschränkung bedarf, als in verdünnten Lösungen statt des cyanamidokohlensauren Kalkes wohl gleich kohlensaurer Kalk entstehen dürfte. Gleichwohl möchte ich betonen, daß auch die Einwirkung der Kohlensäure eine Bildung von Dicyandiamid ebenso gut im Gefolge haben kann, wie jede andere Reaktion, die zur Entstehung freien Cyanamids führt. Beweisend dafür ist das Verhalten des Kalkstickstoffes selbst; setzt man nämlich eine Kalkstickstoffprobe längere Zeit dem Einflusse von Feuchtigkeit und Kohlensäure aus, so läßt sich in ihr stets mit Leichtigkeit Dicyandiamid nachweisen, denn die Kohlensäure bewirkt auch im Kalkstickstoffmehl die Bildung von cyanamidokohlensaurem Kalk und freiem Cyanamid, und dieses muß in dem alkalisch wirkenden Medium, in dem es sich befindet, notwendig in Dicyandiamid übergehen.

Nicht unerwähnt bleiben darf an dieser Stelle, daß die Zeit, die zur Polymerisation des Cyanamids zu Dicyandiamid notwendig ist, bei den verschiedenen Reaktionen verschieden ist. Sehr schnell, fast augenblicklich geht die Polymerisation beim Erwärmen von Kalkstickstofflösungen vor sich, ebenso schnell, wenn man reine Cyanamidlösungen mit etwas Alkali oder Ammoniak erwärmt; langsamer verläuft die Reaktion in alkalischer Lösung in der Kälte und dauert in reiner Cyanamidlösung ohne Zusatz am längsten. Da auch die letztgenannte von diesen in der Chemie schon seit 50—60 Jahren durch die Arbeiten von Cloez und Cannizzaro[1]), Haag[2]), Baumann[3]) und anderen Forschern bekannte Tatsache von Löhnis bestritten wird[4]), so mag hier ein Versuch mitgeteilt werden, der meine von Löhnis angegriffene Annahme bestätigt, nach welcher die von mir bei Umsetzungsversuchen mit Cyanamid beobachtete unvollständige Umwandlung in Ammoniak mit einer teilweisen Polymerisation des Cyanamids in das unzersetzliche Dicyandiamid in Zusammenhang stehen kann. Zu dieser Untersuchung über die Polymerisationsgeschwindigkeit des Cyanamids unter ähnlichen Verhältnissen, wie sie bei meinen Umsetzungsversuchen vorlagen, wurden 100 g ausgeglühter Glassand in kleinen Kölbchen mit 0,1 g Cyanamid versetzt; dieses wurde dann zu verschiedenen Zeiten mit Wasser aus dem Sande ausgewaschen und titriert. Darnach enthielten die Kölbchen folgende Mengen an Cyanamidstickstoff:

zu Anfang des Versuches	66,0 mg
nach 8 Tagen	60,0 „
„ 19 „	33,8 „
„ 36 „	23,9 „
„ 50 „	16,7 „

Das entspricht einer Polymerisation von 9—75 Proz. des ursprünglich vorhandenen Cyanamids. Man erkennt daraus, daß sich auch bei schneller Zersetzung des Cyanamids im Boden recht wohl ein wenn auch nur geringer Anteil der Umwandlung in Ammoniak durch den Uebergang in Dicyandiamid entziehen kann.

---

1) Cloez u. Cannizzaro, Compt. rend. T. XXXII. p. 62 (Ann. 78. p. 228).
2) Haag, Ann. Bd. CXXII. 1862. p. 22.
3) Baumann, Ber. d. D. chem. Ges. 1873. p. 1371.
4) Fühlings landw. Ztg. Jahrg. LVII. Heft 1.

Aus dem bisher Mitgeteilten ergibt sich nun, daß die von Löhnis in scharfer Form ausgesprochene Behauptung, „daß weder unter dem Einflusse der Kohlensäure, noch beim Aufbewahren oder Erwärmen der Kalkstickstofflösung in dieser Dicyandiamid entsteht“, als durchaus irrig bezeichnet werden muß und daß ferner die von Löhnis aufgestellte Dicarbimid-Hypothese jeder wissenschaftlichen Grundlage und somit jeder Berechtigung entbehrt. Der Irrtum Löhnis in dieser Sache ist dadurch hervorgerufen, daß er nicht erkannt hat, daß neben primär entstandenem Dicyandiamid in einer erhitzten Kalkstickstofflösung die durch Bakterien angreifbaren Zersetzungsprodukte des Dicyandiamids vorhanden sein und dieses schließlich ganz darin ersetzen können.

In nicht geringerem Gegensatze als Löhnis' und meine Ansichten über die Möglichkeit einer Dicyandiamidbildung in Kalkstickstofflösungen stehen fernerhin auch unsere Befunde und Anschauungen über die Absorption des Kalkstickstoffs im Boden. Während Löhnis nämlich dem Calciumcyanamid ziemlich die gleiche Absorbierbarkeit zuschreibt, wie sie das schwefelsaure Ammoniak besitzt, konnte ich, wie schon eingangs durch einige Zahlen belegt, nur eine sehr geringe Absorption des Cyanamidstickstoffes feststellen. Wie über den Grad der Absorption divergieren auch unsere Meinungen über die Art und Weise derselben. Einmal glaubt Löhnis eine Absorption des Calciumcyanamids in geschlossener Form annehmen zu dürfen, denn er sagt bei der Erwähnung der Giftwirkung des Kalkstickstoffes[1]), die sich erst in einem vorgeschrittenen Wachstumsstadium der Pflanzen bei Vegetationsversuchen zuweilen geäußert hat und für die man sonst mit Recht die Bildung von Dicyandiamid als Grund angegeben hat, „daß es sich dabei um die Wirkung von noch unzersetztem Kalkstickstoff handelt und zwar von solchem, der sich bis dahin in absorbiertem Zustande befand, nun aber von den sich immer weiter ausbreitenden Wurzeln erreicht und aufgenommen wird“. In dem Referat im Centralblatt[2]) heißt es dann noch weiter über die Wirkung der Absorption folgendermaßen: „Es ist nicht unwahrscheinlich, daß sich bei diesem Absorptionsprozeß eine analoge Umlagerung der Stickstoffatome (in die Imidbindung) vollzieht, wie dies beim Erwärmen der Cyanamidbindung offenbar der Fall zu sein scheint. Diese Frage bleibt noch näher zu untersuchen.“ Da diese mit einem gewissen Vorbehalte ausgesprochenen Ansichten über die Art der Absorption des Calciumcyanamids durch keine Versuche gestützt sind, braucht noch nicht näher darauf eingegangen zu werden, wohl verdient aber der Versuch, auf dem die Angabe über die Absorptionsgröße des Calciumcyanamids beruht, eine etwas nähere Betrachtung. „Ich trug“, so heißt es über diesen Versuch in Sabaschnikoffs Dissertation, p. 23, „in je 50 ccm Kalkstickstofflösung mit 18,76 mg Stickstoff wechselnde Erdmengen (5 bis 80 g) ein, sorgte durch Zugabe von Formalin für dauernde Sterilität und wusch nach Verlauf von 3 Wochen die Erde aus. In dem Waschwasser wurde in gewöhnlicher Weise (nach Kjeldahl) der Gesamtstickstoff bestimmt, dessen Menge sich auf 5,6 bis 7,42 mg belief, also für die verschiedenen Bodenquantitäten nur wenig differierte. Demnach wurden 11,34 bis 13,16, im Mittel 12,25 mg Stick-

1) Fühlings landw. Ztg. Jahrg. LVII. Heft 1. p. 25.
2) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XX. No. 11. p. 328. Anmerkung 1.

stoff von der Erde absorbiert, d. h. fast genau $^2/_3$ des zugesetzten Cyanamidstickstoffes."

Ein Bedenken steigt gleich bezüglich des Zusatzes von Formalin auf, denn die große Reaktionsfähigkeit des Formalins einerseits und des Cyanamids, welches nach meinen Absorptionsversuchen beim Eintragen von Boden in eine Kalkstickstofflösung infolge der Bindung des Kalkes entsteht, andererseits läßt leicht eine chemische Veränderung des letzten befürchten. Dazu kommt die merkwürdig lange Versuchsdauer von drei Wochen, deren Zweckmäßigkeit gewiß sehr fraglich ist, weil doch im Ackerboden der Kalkstickstoff schon in wenigen Tagen vollständig in Ammoniak übergeht und weil außerdem nach den Erfahrungen mit anderen Düngemitteln die Absorptionswirkung eines Bodens im wesentlichen schon nach einer halben bis einer Stunde vollendet ist. Mit vollkommener Deutlichkeit zeigt aber das Resultat des Absorptionsversuches, daß dabei etwas nicht in Ordnung war. Daß nämlich die Wirkung von so verschiedenen Erdmengen (5—80 g) auf dieselbe Lösungsmenge einen nur so geringen Unterschied in der Absorption des Stickstoffes bewirkt hat, widerspricht allen bislang bei der Absorption im Boden gemachten Erfahrungen; denn in vollkommener Gesetzmäßigkeit hat es sich dabei gezeigt, daß bei Einwirkung steigender Erdmengen auch stets ein deutliches Ansteigen der Absorption eintrat. Man könnte zwar einwenden, daß die bei den Absorptionsversuchen mit anorganischen Salzen erzielten Resultate keine direkte Anwendung auf organische Verbindungen gestatten, und daß in Anbetracht der wahrscheinlichen Indifferenz organischer Verbindungen den mineralischen Bestandteilen des Bodens gegenüber wohl überhaupt nicht von einer Absorption, sondern nur von einer auf rein physikalischen Wirkungen beruhenden Adsorption die Rede sein könne, trotzdem ist aber keineswegs zu bezweifeln, daß auch dann immer noch die Wirkung der Masse deutlich zum Ausdruck kommen muß.

Auf Grund dieser Erwägungen und meiner den Befunden Löhnis' direkt entgegenstehenden Untersuchungen halte ich mich daher für berechtigt, die auf dem im voraufgegangenen charakterisierten Versuche fußende Behauptung Löhnis' über die Stärke und die Art der Absorption des Calciumcyanamids als irrig zu bezeichnen; weitere Belege dafür werde ich alsbald durch Untersuchung der Absorptionskraft steriler Böden, wobei ohne die Gefahr bakterieller Veränderungen des Kalkstickstoffes mit verdünnten Lösungen und längerer Versuchsdauer gearbeitet werden kann, noch beibringen.

Weniger deutlich als über die Dicyandiamidbildung und über die Absorption hat Löhnis seine Meinung über die Wirkung der Kohlensäure ausgesprochen. Er gibt zwar, wie schon oben erörtert ist, an, daß die Einwirkung der Kohlensäure auf Kalkstickstofflösung nicht zur Bildung von Dicyandiamid führe, — womit er ja auch für die meisten Fälle, besonders in der landwirtschaftlichen Praxis, bei normalen bakteriellen Bodenverhältnissen völlig recht haben dürfte — läßt dieser verneinenden Aeußerung aber keine positiven Angaben darüber, was unter dem Einfluß der Kohlensäure nun wirklich entsteht, folgen. Löhnis beschränkt sich vielmehr darauf, festzustellen, daß, während in unveränderten, nicht erhitzten Kalkstickstofflösungen keine Ammoniakbildung nach der Beimpfung mit Bakterienreinkulturen zu bemerken ist, die Vorbedingungen dafür durch die Behandlung der Lösungen mit Kohlensäure, besonders im Verein mit absorbierend wirkenden Substanzen,

geschaffen werden. Bei konsequentem Festhalten an seiner Dicarbotetrimidhypothese hätte Löhnis hieraus eigentlich folgern müssen, daß gerade wie die Absorptionskraft, so auch die Kohlensäure eine Umlagerung des Cyanamids in die durch Bakterien angreifbare Imidform bewirke; doch mag ihm selbst die Ausdehnung seiner Hypothese auf die Kohlensäurewirkung wohl etwas zu gewagt erschienen sein. Die Erklärung für die Tatsache, daß Bakterien in unveränderten Kalkstickstofflösungen nicht zur Entwickelung gelangen, habe ich schon an anderer Stelle[1]) gegeben; sie lautet dahin, daß die starke Alkalität der Kalkstickstofflösung jedes Bakterienwachstum unmöglich macht und daß die Entwickelung und Wirkung eingeimpfter Bakterien erst dann sich entfalten kann, wenn durch Zusatz absorbierender Substanzen oder durch Einleiten von Kohlensäure die ätzende Beschaffenheit der Lösung auf ein erträgliches Maß herabgedrückt und zugleich das von Bakterien einzig und allein angreifbare freie Cyanamid gebildet ist. Die schnelle Zersetzung dieser Verbindung im Boden ist oben schon durch einige Zahlen belegt worden; daß es auch im Gegensatz zu den von anderer Seite aufgestellten Behauptungen[2]) in Nährlösung durch Bakterien in Ammoniak übergeführt wird, geht aus dem folgenden Versuche hervor.

100 ccm einer Lösung, die 0,5 Prom. Cyanamid, 0,5 Prom. Dikaliumphosphat, 0,1 Prom. Traubenzucker und 0,1 Prom. Asparagin enthielt, wurde mit 10 Proz. Erde beimpft und nach 14 Tagen das in der Lösung entstandene Ammoniak bestimmt. Zwei untersuchte Kölbchen enthielten:

1. Kölbchen 15,5 mg NH_3-Stickstoff,
2. „ 14,9 „ „ „

Aus zwei anderen Kölbchen dieses Versuches wurden nach kräftigem Schütteln und Absitzenlassen der Impferde 10 ccm in frische, sterilisierte[3]) Cyanamidlösung übertragen und darin abermals nach 14 Tagen der gebildete Ammoniakstickstoff bestimmt. Es enthielt

ein Kölbchen 7,5 mg NH_3-Stickstoff,
ein zweites Kölbchen 6,4 „ „ „

Aus Kölbchen dieses Versuches wurde abermals in frische Cyanamidlösung übergeimpft und nach 14 Tagen

in einem Kölbchen 6,7 mg NH_3-Stickstoff,
in einem zweiten Kölbchen 5,4 „ „ „

gefunden. Dieser letzte Versuch beweist, da in der Cyanamidlösung durch die 10 ccm der Impfflüssigkeit kaum eine Trübung hervorgerufen wurde, daß das Cyanamid auch in Lösung, also ohne das Vorhandensein irgendwelcher absorbierend wirkenden Substanzen, durch Bakterien in Ammoniak umgewandelt wird. Das Verhalten des freien Cyanamids ist demnach grundverschieden von dem seiner Kalkverbindung, dem Calciumcyanamid; näher wird noch von mir darauf bei einer Behandlung der Giftwirkungen des Kalkstickstoffes ein-

1) Fühlings Landw. Zeitung. Jahrg. LVII. p. 283.
2) Ulpiani, Rend. Soc. Chim. di Roma. 1906. No. 4.
3) Cyanamid läßt sich im Gegensatz zu Calciumcyanamid ohne wesentliche Veränderung in verdünnten Lösungen sterilisieren. Fühlings landw. Ztg. Jahrg. LVII. Heft 8.

gegangen werden; ich glaube, daß meiner schon jetzt gegebenen Erklärung des verschiedenen Verhaltens beider Verbindungen dann auch die Anerkennung von seiten Löhnis' nicht fehlen wird.

Was nun die erste Veränderung angeht, die nach meinen Angaben der Kalkstickstoff durch die Einwirkung von Wasser erleidet, so ist aus keiner der drei hier in Betracht kommenden Arbeiten von Löhnis und Sabaschnikoff zu erkennen, wie sich die Genannten dazu stellen. Die von Löhnis versprochenen[1]) Erörterungen über den Abbau des Calciumcyanamids werden aber wohl dartun, daß er diese chemische Tatsache zu Recht bestehen läßt.

Die hiermit beendigte Charakterisierung des Löhnisschen Standpunktes hat ergeben, daß in allen Hauptpunkten zwischen uns große Gegensätze bestehen. Keineswegs gebe ich mich deshalb auch der Hoffnung hin, durch die von mir versuchte Widerlegung der Löhnisschen Ansichten den Streit der Meinungen nun beigelegt zu haben; denn da Löhnis wahrscheinlich von der Richtigkeit seiner Ansichten gerade so überzeugt sein wird, wie ich von der der meinigen, so wird er sicherlich viel gegen meine Ausführungen einzuwenden haben. Immerhin dürfte die Festlegung des beiderseitigen Standpunktes insofern als sehr nützlich betrachtet werden können, als durch die Markierung der wesentlichen Widersprüche wenigstens der Gefahr vorgebeugt ist, daß sich der Streit ins Uferlose ausdehnt und entscheidungslos verläuft. So sehr mir aber auch bei der schroffen Art des Angriffes, den Löhnis gegen mich gerichtet hat[2]), die Erreichung einer Entscheidung am Herzen liegt, werde ich mich, wie ich jetzt schon aussprechen muß, nur dann an der Herbeiführung derselben noch weiterhin beteiligen, wenn auch von seiten Löhnis' in einer rein sachlichen, von persönlichen Verletzungen freien Weise die Angelegenheit fortgeführt wird. Manchen Leser mag diese Bedingung befremden, wer aber die Art der Polemik Löhnis' kennt, wird sich nicht darüber wundern, sondern nur bedauern, daß sich bei wissenschaftlichen Auseinandersetzungen solche Forderungen notwendig machen können.

Wenn ich nun noch zum Schlusse meiner Ausführungen in eine Prüfung der Frage eintrete, inwieweit mein über die erste Arbeit Löhnis' über die Zersetzung des Kalkstickstoffs[3]) abgegebenes Urteil[4]) — daß sie nämlich überhaupt nicht als ein Beitrag zur Frage nach der Zersetzung des Kalkstickstoffs anzusehen sei — auf die neuen Untersuchungen von Löhnis und Sabaschnikoff übertragen werden darf, so geschieht das gewissermaßen auf Veranlassung von Löhnis selbst. Löhnis glaubt nämlich, daß meine beiden Behauptungen in dem Nachwort zu meiner Arbeit über den Einfluß des Sterilisierens auf Kalkstickstofflösungen[5]), daß

1) Löhnis' neue Untersuchungen mir keine Veranlassung gegeben hätten, auch nur ein Wort an meinen Ausführungen zu ändern, und daß

1) Fühlings landw. Ztg. Jahrg. LVII. Heft 8.
2) Fühlings landw. Ztg. Jahrg. LVII. Heft 1.
3) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. p. 87.
4) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XX. 1908. p. 704.
5) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XX. p. 704.

2) Löhnis' Kritik meiner Versuche in den meisten Stücken unzutreffend sei,

zu irrtümlichen Auffassungen bei den Lesern führen könnten. Aus der Beanstandung des ersten Satzes kann ich nur entnehmen, daß Löhnis befürchtet, es könne daraus der Schluß gezogen werden, daß ich mein Urteil über seine erste Arbeit uneingeschränkt auch auf die zweite übertrüge. Da nun eine solche Auffassung meiner Worte nicht in meinem Willen gelegen hat, bleibt hier zunächst noch festzustellen, inwieweit eine Uebertragung meines Urteils auf die zweite Arbeit statthaft ist.

Meine Ansicht über die erste Kalkstickstoffarbeit Löhnis' beruhte auf der Feststellung, daß durch das von Löhnis ausgeführte Sterilisieren der Kalkstickstofflösungen das darin enthaltene Calciumcyanamid zunächst in Dicyandiamid und dann in die weiteren Zersetzungsprodukte des Dicyandiamids übergeht. Alle diejenigen Versuche der neuen Arbeit, bei denen die Kalkstickstofflösungen in der gleichen Weise behandelt sind, müssen daher von dem nämlichen Gesichtspunkte aus betrachtet ebenfalls als bedeutungslos für die Frage nach der Zersetzung des Kalkstickstoffs durch Bakterien bezeichnet werden. Eine Musterung der Versuche hieraufhin ergibt nun zunächst einen Widerspruch zwischen den Angaben in den gemeinsamen Referaten von Löhnis und Sabaschnikoff und in der Dissertations von Sabaschnikoff. Während Sabaschnikoff[1]) nämlich sagt, daß alle von ihm mit Erde als Impfmaterial ausgeführten Versuche mit jedesmal frisch bereiteter, nicht erhitzter Kalkstickstofflösung ausgeführt seien, wird von Löhnis bei der Besprechung eines beiden Arbeiten, der Dissertation und den Referaten, gemeinschaftlichen Hauptversuches über die Umwandlung des Kalkstickstoffs und Stickstoffkalks in Lösung mit und ohne Traubenzucker zugegeben[2]), daß dieser Versuch mit durch Dampf sterilisierten Lösungen ausgeführt sei; Löhnis schreibt nämlich, daß „in den konzentrierten Lösungen eine Assimilation des durch die voraufgegangene Dampfsterilisation gebildeten Ammoniaks stattgefunden habe“. Da nun auch fernerhin eine so große Ammoniakabspaltung aus nicht mit Erde beimpften Kalkstickstofflösungen, wie sie bei diesem Versuche zu verzeichnen war, wohl nur nach voraufgegangenem längeren Erhitzen eintritt, so stehe ich nicht an, die Angabe in dem gemeinschaftlichen Referate für die richtige zu halten. Dieser Versuch scheidet infolgedessen für die Beurteilung der Zersetzung von Kalkstickstofflösungen überhaupt und damit natürlich bezüglich seiner Differenzierung, bei Zusatz und beim Fehlen von Traubenzucker, völlig aus. Ueber einen anderen Versuch, der die Intensität der Kalkstickstoffumsetzung während der Monate März—Oktober zum Gegenstand hatte, läßt sich keine Entscheidung treffen, da nur die Zahlen für die Ammoniakbildung in den beimpften Kölbchen, aber keine für die in den nicht beimpften Kölbchen angegeben sind. Sind diese Umsetzungsversuche mit nicht sterilisierten Nährlösungen ausgeführt, so sind sie allerdings als ein Beitrag zur Zersetzung des Kalkstickstoffs zu betrachten, sind dann aber mit den Zahlen aus den Jahren 1903 und 1904, mit denen sie zusammengestellt sind, unvergleichbar wegen der verschiedenen Behandlungsweise der Kalkstickstofflösungen in den genannten Jahren. Bei einigen kleineren Versuchen,

---

1) Mitteilungen des landw. Instituts der Universität Leipzig. Heft 3. p. 8.
2) Fühlings landw. Ztg. Jahrg. LVII. Heft 1. p. 19.

die meistens als Gegenbeweise gegen meine Annahme einer Dicyandiamidbildung beim Erhitzen ausgeführt sind, ist allerdings in einwandfreier Weise nicht sterilisierte Kalkstickstofflösung zur Verwendung gelangt, die Reinzüchtung der Bakterien aber und die Prüfung derselben auf ihre Befähigung zur Ammoniakbildung ist wieder mit sterilisierten, also kein Cyanamid mehr enthaltenden Lösungen vorgenommen worden. Eine Ausnahme hiervon bilden allerdings zwei Versuche, für welche die Kalkstickstofflösung durch Filtration keimfrei und unter verschiedenen Modifikationen (Behandlung mit Kohlensäure und Zusatz absorbierender Substanzen) mit einer Reinkultur von Bacterium Kirchneri beimpft wurde. Hierbei trat eine geringe Ammoniakbildung ein und da dieses Ammoniak wirklich wenigstens teilweise aus dem Cyanamid herrühren muß, so ist das Bacterium Kirchneri auch tatsächlich als ein zur Cyanamidspaltung befähigtes Bakterium zu betrachten[1]). Für alle übrigen von Löhnis und Sabaschnikoff gezüchteten Bakterien steht der Beweis dafür, daß sie cyanamidspaltende Bakterien sind, noch aus; stellt es sich als richtig heraus, daß die Befähigung zur Cyanamidspaltung keine Seltenheit unter den Bakterien ist, so mögen sich ja auch noch wirklich Cyanamidbakterien darunter befinden, durch weitere Untersuchungen muß das aber erst noch bewiesen werden.

Welcher Weg zur Reinzüchtung von Cyanamidbakterien von mir eingeschlagen ist, mag noch kurz hier angegeben werden. Die erste Bedingung ist dabei natürlich, daß die mit Erde beimpften Lösungen auch wirklich Calciumcyanamid enthalten; die Lösungen stelle ich daher, um das Erhitzen zu vermeiden, durch Auflösen von trocken sterilisiertem Kalkstickstoff in der vorher im Dampf sterilisierten Nährlösung her. Da nun eine Weiterzüchtung nach dem Anhäufungsverfahren in Kalkstickstofflösungen wegen ihrer starken Alkalität unmöglich ist, so wird aus der ersten mit Erde beimpften Kalkstickstofflösung in eine Cyanamidlösung übergeimpft und darin weitergezüchtet. Abgesehen davon, daß der Cyanamidlösung die schädigende Aetzwirkung auf die Bakterien abgeht, besitzt sie, wie schon an anderer Stelle von mir mitgeteilt ist, den Vorzug, daß sie sich ohne wesentliche Aenderung sterilisieren läßt; es kann mit ihrer Hilfe daher auch Cyanamidgelatine und Cyanamidagar für Plattenkulturen hergestellt werden und schließlich können die erhaltenen Bakterien darin auf ihr Cyanamidspaltungsvermögen geprüft werden. Ueber die Resultate, zu denen ich auf diesem Wege gelangt bin, hoffe ich alsbald eingehender berichten zu können.

Was nun schließlich noch meine zweite Behauptung in meinem Nachworte zu der Arbeit über den Einfluß des Sterilisierens auf Kalkstickstofflösungen angeht, daß nämlich für das Unzutreffende der Kritik Löhnis in den meisten Stücken meine dort (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1908. p. 704) angeführten Versuche mancherlei Beweise brächten und daß andere sich in meiner Arbeit „Ueber die Absorption des Kalkstickstoffs im Boden“ vorfänden, so muß ich zugeben, daß ich damit vielleicht etwas zu viel gesagt habe. Statt „in den meisten Stücken“ würde ich besser „in der Hauptsache“ geschrieben haben; denn ich kann nicht bestreiten, daß Löhnis meiner ersten[2]) Veröffentlichung gegen-

1) Das ist der einzige, aber auch nur zufällige rein bakteriologische Erfolg der Untersuchungen Löhnis', denn Bacterium Kirchneri stammt aus der ersten Arbeit.
2) Fühlings landw. Ztg. 1907. p. 122.

über, deren Versuche wohl zu der Feststellung der Dicyandiamidbildung beim Erhitzen von Kalkstickstofflösungen, aber noch nicht bis zu der Erkenntnis geführt hatten, daß sich das Dicyandiamid bei fortgesetztem Erhitzen noch weiter zersetzte, in einigen Punkten im Rechte geblieben ist. Um Löhnis voll gerecht zu werden, muß ich diese Punkte noch kurz angeben. Ich räume daher ein, wie ich es auch schon im Centralblatt f. Bakt. Abt. II. 1908. p. 704 getan habe, daß ich im Irrtum war, als ich annahm, eine erhitzte Kalkstickstofflösung müsse notwendigerweise fast ausschließlich Dicyandiamid enthalten; meine eigenen Versuche haben gezeigt, daß das primär entstandene Dicyandiamid bei weiterem Erhitzen in alkalischer Lösung wieder zersetzt wird. Zweitens gebe ich zu, daß das Zurückbleiben der Stickstoffumwandlung in einem mit Kalkstickstoff vermengten Boden, der einige Zeit auf 40° erwärmt wurde, nicht auf der Bildung von Dicyandiamid beruhen muß — wenngleich der Beginn der Dicyandiamidbildung bei dieser Temperatur ganz außer Zweifel steht —, sondern auch durch eine Schädigung des Bakterienbestandes hervorgerufen sein kann. Endlich war auch meine in recht bescheidener Form ausgesprochene Behauptung, daß die Ammoniakbildung in den von Löhnis sterilisierten und deshalb nach meiner damaligen Ansicht fast ausschließlich Dicyandiamid enthaltenden Kalkstickstofflösungen „wohl durch die so wesentlich von den natürlichen Verhältnissen abweichenden Versuchsbedingungen und im besonderen durch den Zusatz von Traubenzucker veranlaßt sein müßten“, irrig. Wie Löhnis nachgewiesen, wird die von mir zuerst festgestellte Unzersetzlichkeit des Dicyandiamids im Ackerboden auch in Nährlösungen bei Gegenwart von Traubenzucker nicht aufgehoben; im übrigen handelt es sich in den sterilisierten Kalkstickstofflösungen ja auch bereits nicht mehr um Dicyandiamid, sondern seine Zersetzungsprodukte.

Ich hoffe, daß diese Zugeständnisse Löhnis befriedigen und die bei den Lesern etwa entstandenen irrtümlichen Ansichten berichtigen werden. Daß die fundamentalen Meinungsverschiedenheiten zwischen Löhnis und mir, wie sie in der vorliegenden Mitteilung festgelegt sind, kaum davon betroffen werden, dürfte aber auch wohl leicht erkannt werden können; doch auch was diese Punkte angeht, erkläre ich mich gern bereit, offen meinen Irrtum einzugestehen, wenn Löhnis mich in sachlicher, wissenschaftlicher Weise davon überzeugt, daß nicht meine, sondern seine Ansichten den größeren Anspruch auf Richtigkeit besitzen.

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines, Lehrbücher u. s. w.

Bericht über die königl. Lehranstalt für Wein-, Obst- u. Gartenbau in Geisenheim a. Rh. für das Etatsjahr 1907, erstattet von dem Direktor Jul. Wortmann. Berlin (Parey) 1908. IV, 465 p. 8°. 87 Fig. 5 M.

Briem, H., Gedanken über und Wissen von Pflanzenkrankheiten. (Blätt. f. Zuckerrübenbau. Jg. XV. 1908. N. 17. p. 261—264.)

Buchner, Eduard, Nobel-Vortrag. (Nord. med. Arkiv. 1908. Afd. 2 (Inre med.) Häft 1. N. 2. 20 p. 1 Taf. u. 20 Fig.)

Eleukin, A., Historische Skizze der zentralen phytopathologischen Station des botanischen Gartens. (Bull. du Jardin Impér. bot. de St. Pétersbourg. T. VIII. 1908. Livr. 2.)

Guiart, J. et **Grimmert, L.**, Précis de diagnostic chimique, microscopique et parasitologique. 2. édition augmentée. Paris 1908. XVII, 989 p. 8°. 8 Taf. u. 500 Fig. 12,50 M.

Jahresbericht über die Fortschritte in der Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel. Bearb. von H. Beckurts unter Mitwirkung von H. Frerichs u. H. Emde. (Aus: Jahresber. f. d. Pharmacie. Jg. XVII. 1907.) Göttingen (Vandenhoeck & Ruprecht) 1908. 170 p. 8°. 5 M.

Meissner, Richard, Fünfter Bericht der kgl. Württemb. Weinbauversuchsanstalt Weinsberg über ihre Tätigkeit im Jahre 1907 an das kgl. Ministerium des Kirchen- und Schulwesens und an die kgl. Zentralstelle für die Landwirtschaft. Weinsberg 1908. 96 p. 8°.

Thesaurus litteraturae mycologicae et lichenologicae ratione habita praecipue omnium quae adhuc scripta sunt de mycologia applicata quem congesserunt G. Lindau et P. Sydow. Vol. I. A—L. Lipsiis (Bornträger) 1908. 8°. 31 M.

Transvaal-Department of Agriculture. Report of the Government Veterinary Bacteriologist, 1906—1907. Pretoria 1908. 264 p. 8°.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Abel, R. und **Ficker, M.**, Einfache Hilfsmittel zur Ausführung bakteriologischer Untersuchungen. 2. Aufl. Würzburg (Kabitzsch) 1908. 57 p. 8°. 1,20 M.

Amato, Alexandro, Il tachiolo paternò nella colorazione delle ciglia dei batteri. (Lo Sperimentale = Arch. di biol. norm. e pathol. Anno LXII. 1908. Fasc. 4. p. 436—438. 1 Fig.)

Beninde, Ein bakteriologisch-chemischer Wasserkasten. (Ztschr. f. Medizinalbeamte. Jg. XXI. 1908. N. 15. p. 542—544. 1 Fig.)

Busse, W. und **Ulrich, F.**, Ueber den Keimkraft-Apparat für Rübensaaten von E. Scharf. (Arb. a. d. k. biol. Anst. f. Land- u. Forstwirtsch. Bd. VI. 1908. Heft 3. p. 362—372.)

Chassevant, Allyre, Les filtres à sable non submergés. (L'hyg. gén. et appl. Année II. 1908. N. 9. p. 513—518.)

Dominikiewicz, M., Zur Frage über die Einheit der Zusammensetzung und Herstellungsweisen von Nährsubstraten für Bakterien. Bestimmung von Agar-Agar und Gelatine in bakteriellen Substraten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLVII. 1908. Heft 5. p. 666—670.)

Fehrs und **Sachs-Müke**, Beitrag zur Züchtung und Isolierung von Anaerobien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLVIII. 1908. Heft 1. p. 122—125. 3 Fig.)

Giltay, E., Einiges über Beleuchtung beim Mikroskopieren. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXV. 1908. Heft 2. p. 167—169. 3 Fig.)

Hahn, H., Apparat zur Einbettung in Paraffin. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXV. 1908. Heft 2. p. 184—187. 2 Fig.)

Heimstädt, Oskar, Spiegelkondensor und Paraboloid. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXV. 1908. Heft 2. p. 1888—105. 1 Fig.; Hierzu Erwiderung von H. Siedentopf, ib. p. 195—199.)

Joseph, F. H., A modification of Romanowsky stain. (Lancet. 1908. Vol. II. N. 12. p. 875–876.)

Klopstock, M. und **Kowarsky, A.**, Praktikum der klinischen, chemisch-mikroskopischen und bakteriologischen Untersuchungsmethoden. 2. Aufl. Wien (Urban & Schwarzenberg) 1908. VIII, 343 p. 8°. 16 farb. Taf. u. 43 Fig. 5 M.

Schottelius, Ernst, Zur bakteriologischen Technik. (München. med. Wchnschr. Jg. LV. 1908. N. 42. p. 2186.)

Uhlenhuth, Schüttelapparat zum Schütteln bei bestimmten Temperaturen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XLII. 1908. Beiheft [2. Vereinig. f. Mikrobiol.] p. 108.)

Verocay, José, Beseitigung der Formolniederschläge aus mikroskopischen Schnitten. (Centralbl. f. allg. Pathol. Bd. XIX. 1908. N. 19. p. 769—774.)

White, Benjamin, Eine kleine Kugelmühle. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLVIII. 1908. Heft 2. p. 254—255. 1 Fig.)

Wolff, Max, Ueber Gefriermethoden und Gefriermikrotome im allgemeinen, sowie über einen neuen Gefriertisch für die Zimmermannschen Mikrotome und über die Behandlung freier Schnitte. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXV. 1908. Heft 2. p. 169—184. 4 Fig.)

Systematik, Morphologie.

Börner, Carl, Eine monographische Studie über die Chermiden. (Arb. a. d. k. biol. Anst. f. Land- u. Forstwirtsch. Bd. VI. 1908. Heft 2. p. 81—320. 3 Taf. u. 101 Fig.)

Cruchet, P., Note sur un nouveau parasite du Polygonum alpinum (Puccinia polygoni Cruch. et Mayor). (Bull. Herb. Boissier. T. II. 1908. N. 8. p. 245—248.)

Dietel, P., Ueber die morphologische Bewertung der gleichnamigen Sporenformen in verschiedenen Gattungen der Uredineen. (Hedwigia. Bd. XLVIII. 1908. Heft 1/2. p. 118—125.)

Hennings, P., Fungi S. Paulenses 4. a cl. Puttemans collecti. (Hedwigia. Bd. XLVIII. 1908. Heft 1/2. p. 1—20.)

—, Fungi paraënses 3. (Hedwigia. Bd. XLVIII. 1908. Heft 1/2. p. 101—117.)

de Kruyff, E., Untersuchungen über auf Java einheimische Hefearten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XXI. 1908. N. 20/21. p. 616—619.)

Lindner, P., Endomyces fibuliger n. sp., ein neuer Gärungspilz und Erreger der sogenannten Kreidekrankheit des Brotes. (Verh. d. Ges. Dtsch. Naturf. u. Aerzte. 79. Vers. Dresden 1907. 2. Teil. 1. Hälfte. Naturw. Abt. p. 215—216.)

Biologie.

Bubák, Fr. und **Kabat, J. E.**, Mykologische Beiträge. 5. (Hedwigia. Bd. XLVII. 1908. Heft 6. p. 354—364. 7 Fig.)

Busse, W. und **Ulrich, P.**, Ueber das Vorkommen von Wurzelbranderregern auf der Rübensaat. (Arb. a. d. k. biol. Anst. f. Land- u. Forstwirtsch. Bd. VI. 1908. Heft 3. p. 373—384.)

Carapelle, E., Ueber die Reduktionserscheinungen der Bakterien. Experimentelle Untersuchungen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLVII. 1908. Heft 5. p. 545—559.)

Euler, Hans, Zur physiologischen Rolle der Katalase. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XXI. 1908. N. 20/21. p. 609—610.)

Fischer, Hugo, Meine angebliche Gegnerschaft gegen die Zymaseentdeckung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XXI. 1908. N. 20/21. p. 610—614.)

Fuhrmann, Franz, Biologie der Knöllchenbakterien der Leguminosen im Lichte neuerer Forschung. (Mitt. d. nat. Ver. für Steiermark. Bd. XLIV. 1908. Heft 1. p. 34—56.)

Kolkwitz, R. und **Marsson, M.**, Oekologie der pflanzlichen Saprobien. (Ber. d. Dtschn. bot. Ges. Bd. XXVIa. 1908. Heft 7. p. 505—519.)

Mordwilko, A., Beiträge zur Biologie der Pflanzenläuse. Aphididae Passerini. (Biol. Centralbl. Bd. XXVIII. 1908. N. 19. p. 631—639.)

Pantanelli, E., Ueber Pilzrevertase. (Ber. d. Dtschn. bot. Ges. Bd. XXVIa. 1907. Heft 7 p. 594—604.)

Potter, M. C., Bakterien als Agentien bei der Oxydation amorpher Kohle. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XXI. 1908. N. 20/21. p. 647—665. 2 Fig.)

Schönfeld, F. und **Rossmann, H.**, Vererbung und Anerziehung von Eigenschaften bei obergärigen Bierhefen. (Forts.) (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXV. 1908. N. 38. p. 541—546.)

Stoklasa, Julius, Beitrag zur Kenntnis der chemischen Vorgänge bei der Assimilation des elementaren Stickstoffs durch Azotobacter und Radiobacter. (Schluß.) (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XXI. 1908. N. 20/21. p. 620—632. 3 Taf.)

Voorhees, Edward B. und **Lipman, Jacob G.**, A review of investigations in soil bacteriology. Washington (Gov. Print. Off.) 1907. 108 p. 8⁰. (= U. S. Dep. of Agric. Office of Experiment Stations. Bulletin No. 194.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft, Wasser, Boden.

Calmette, A. et **Rolants, M. E.**, Rhôle de la fosse septique (Septic tank) dans l'épuration biologique des eaux d'égout. (Rev. d'hyg. et de police sanit. T. XXX. 1908. N. 8. p. 633—643.)

Proskauer, Die Beurteilung des Wassers in hygienischer Beziehung. (Journ. f. Gasbeleuchtung u. Wasserversorgung. Jg. LI. 1908. N. 38. p. 865—870.)

Nahrungsmittel im allgemeinen.

Kochs, J. und **Weinhausen, E.**, Welche Temperaturen erreichen Obst- und Gemüsekonserven beim Sterilisieren? (Konserven-Ztg. Jg. IX. 1908. N. 37. 38. p. 601—602; N. 39. p. 618—619.)

Pfuhl, Ueber die Verunreinigung des Inhalts von Konservenbüchsen nach der Sterilisation. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. LXI. 1908. Heft 2. p. 209—212.)

Fleisch.

Blanchard, M., Infections et intoxications causées par les viandes. (Rec. de méd. vétér. [d'Alfort]. T. LXXXV. 1908. N. 17. p. 566—571.)

Böhm, Jos., Weitere Mitteilung zur Trichinenschau in Bayern. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XIX. 1908. Heft 1. p. 17—18.)

Bruns, Hugo, Ueber das bakteriologische Verhalten des Fischfleisches nach der Zubereitung. (Arch. f. Hyg. Bd. LXVII. 1908. Heft 3. p. 209—236.)

Buttenberg, P., Ueber die Herstellung von borsäurefreien Krabbenkonserven. (Schluß.) (Konserven-Ztg. Jg. IX. 1908. N. 36. p. 568—569.)

Einiges über die Fleischkonservenfabrikation. (Konserven-Ztg. Jg. IX. 1908. N. 35. p. 549—550.)

Richter, Geo., Die Feuchtigkeitsreaktion trockener Gelatine und ihre Bedeutung für die Präservierung von Fleischsaft. (Münch. med. Wchnschr. Jg. LV. 1908. N. 37. p. 1935—1936.)

Milch, Molkerei.

Friese, W., Ueber die Bestimmung von Formaldehyd in Milch direkt und einige Reaktionen dieser Art. (Verh. Ges. Dtschr. Naturf. u. Aerzte. 79. Vers. Dresden 1907. Teil II. Hälfte 2. Med. Abt. p. 526—530.)

Galvagno, Onorino, Zur Untersuchung der pasteurisierten Milch. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XXI. 1908. N. 20/21. p. 632—647.)

Halphen, G., Sur la caractérisation de l'acide benzoïque et sa recherche dans le beurre. (Journ. de pharm. et de chim. Année XCIX. Sér. 6. T. XXVIII. 1908. N. 5. p. 201—203.)

Schellhase, Willy, Ueber die Katalyse der Milch. Diss. med. Gießen. 1908. 8⁰.

Bier, Bierbrauerei.

Gärtner, A., Einiges aus der Praxis des Hefepressens zwecks Versand. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. XXXVI. 1908. N. 37. p. 455—456.)

Hayduck, F., Zur Mechanik und Dynamik der Hefe. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXV. 1908. N. 40. p. 596—599. 6 Fig.)

Heinzelmann, R., Die Gärbottiche mit Zubehör. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXV. 1908. N. 36, 37, 38. p. 546—549. 45 Fig.)

Pankrath, Otto, Endvergärung und Malzanalyse. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXV. 1908. N. 40. p. 591—596.)

Schönfeld, F. und **Rossmann, H.**, Vererbung und Anerziehung von Eigenschaften bei obergärigen Bierhefen. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXV. 1908. N. 37. p. 525—530; N. 38, 39.)

Sommer, Egon, Die Infektionsgefahr der Filterpresse. (Allg. Ztschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikat. Jg. XXXVI. 1908. N. 40. p. 493—494.)

Wein, Weinbereitung.

Delle, Ed., L'acide citrique dans les vins. (Moniteur vinicole. Année LIII. 1908. N. 75. p. 298.)

Langlade, M., Le mutage des mouts. (Moniteur vinicole. Année LIII. 1908. N. 76. p. 302.)

Mährlen, Welche Verbesserungen sind auf dem Gebiete der Weinmostbereitung bei uns anzustreben? (Der Weinbau. Jg. VII. 1908. N. 7. p. 109—110; No. 8. p. 123—126.)

Meissner, Ueber die Behandlung der Weinfässer und Bütten. (Der Weinbau. Jg. VII. 1908. N. 7. p. 103—105; N. 8. p. 118-120. 4 Fig.)

Rosenstiehl, A., L'acide malique dans la vinification. (Moniteur vinicole. Année LIII. 1908. N. 78. p. 311.)

Abfallstoffe, Desinfektion etc.

Auer, P., Morphologische und biologische Beeinflussung der Bakterien durch Kalk mit spezieller Berücksichtigung der Kalkdesinfektion. (Arch. f. Hyg. Bd. LXVII. 1908. Heft 3. p. 237—286.)

Defries, Wolf, Standard chemical disinfectants. London 1908. Jeyes sanitary compounds Cy. 20 p. 8°.

Fertig, Desinfektionspraxis in der Stadt und dem Landkreise Worms. (Ztschr. f. Medizinalbeamte. Jg. XXI. 1908. N. 17. p. 612—613.)

Hartung, Egon, Unterchlorigsaures Natron als Desinfiziens. (Med. Klinik. Jg. IV. 1908. N. 39. p. 1494—1495.)

Kellerman, Karl, Pratt, R. Winthrop and **Kimberly, A. Elliott**, The desinfection of sewage effluents for the protection ef public water supplies. Washington (Gov. Print. Off.) 1907. 47 p. 8°. (= U. S. Dep. of Agric. Bureau of Plant Industry. Bulletin. No. 115.)

Lösener, Wohnungsdesinfektion mit Formaldehyd ohne Apparate. (Desinfektion. Jg. I. 1908. Heft 3. p. 91—119.)

Marmann, Johannes, Einige Desinfektionsversuche mit dem neuen Autanpräparat und dem Kaliumpermanganatverfahren im Vergleich zu dem Raumdesinfektionsverfahren mit dem Flüggeschen und dem Lingnerschen Apparat. (Hyg. Rundsch. Jg. XVIII. 1908. N. 19. p. 1137—1148.)

Renezeder, Heinrich, Einiges aus dem Kreislauf der Materie. Reinigung und Verwertung städtischer Abwässer. (Schriften d. Ver. z. Verbreitung naturw. Kenntnisse Wien. Bd. XLVIII. 1908. p. 75—116. 2 Fig.)

Rideal, S., On testing disinfectants. (Journ. of trop. med. May 1. 1908. 11 p.)

Sommerville, David and **Walker, J. T. Ainslie**, The standardisation of disinfectants. (The sanitary Record. March. 26th, 1908. 2 Fig.)

Travis, George Lewis, The Hampton interpretation of the operation of sewage purification. (British med. Journ. 1908. N. 2487. p. 575—577.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Alwood, William B., The fermenting power of pure yeasts and some associated fungi. Washington (Gov. Print. Off.) 1908. 28 p. 8° (= U. S. Dep. of Agric. Bureau of Chemistry. Bulletin. No. 111.)

Appel, Otto, Beiträge zur Kenntnis der Kartoffelpflanze und ihrer Krankheiten. 2. (Arb. a. d. k. biol. Anst. f. Land- u. Forstwirtsch. Bd. VI. 1908. Heft 1. p. 1—29.)

Appel, Otto and **Laibach, Friedrich**, Ueber ein im Frühjahr 1907 in Salatpflanzen verheerendes Auftreten von Marssonia panathoniana Berl. (Arb. a. d. k. biol. Anst. f. Land- u. Forstwirtsch. Bd. VI. 1908. Heft 1. p. 30—37. 1 Taf.)

Bennett, R. L., A method of breeding early cotton to escape bollweevil damage. Washington (Gov. Print. Off.) 1908. 28 p. 8°. (= U. S. Dep. of Agric. Farmers Bulletin. No. 314.)

Chittenden, F. H., An injurious North American species of Apion, with notes on related forms. Washington (Gov. Print. Off.) 1908. II S., p. 29—32. 8°. (= Results, Some miscellaneous. of the work of the Bureau of Entomology. 9. = U. S. Dep. of Agric. Bureau of Entomology. Bulletin No. 64. P. 4.)

v. Faber, F. C., Ueber die angebliche Bedeutung von Myxomonas betae Brzezinski für den Wurzelbrand und die Herz- und Trockenfäule der Rüben. (Arb. a. d. k. biol. Anst. f. Land- u. Forstwirtsch. Bd. VI. 1908. Heft 3. p. 352—361.)

—, Untersuchungen über Krankheiten des Kakaos. 1. Ueber die Hexenbesen der Kakaobäume in Kamerun. — 2. Ueber die Krebskrankheit des Kakaos in Kamerun. (Arb. a. d. k. biol. Anst. f. Land- u. Forstw. Bd. VI. 1908. Heft 3. p. 385—406. 1 Taf.)

Feytaud, J., Les chrysomèles de l'osier. (Rev. de viticult. Année XV. 1908. N. 771. p. 344—348; N. 772. p. 374—378.)

Fletcher, F., Note on a toxic substance exsecreted by the roots of plants. Pusa (Agric. Research Inst.) 1908. 16 p. 8⁰. (= Memoirs of the Department of Agriculture in India. Botan. Ser. Vol. II. No. 3.)

Girault, A. A., The lesser peach borer. Washington (Gov. Print. Off.) 1907. II S., p. 31—48. 8⁰. (Papers on deciduous fruit insects and insecticides.) (= U. S. Dep. of Agric. Bureau of Entomology. Bulletin. No. 68. P. 4.)

Hinds, W. E., Some factors in the natural control of the Mexican cotton boll weevil. Washington (Gov. Print. Off.) 1907. 79 p. 8⁰. (= U. S. Dep. of Agric. Bureau of Entomology. Bulletin No. 74.)

Howell, Arthur H., The relation of birds to the cotton boll weevil. Washington (Gov. Print. Off.) 1907. 31 p. 8⁰. (= U. S. Dep. of Agric. Biolog. Survey. Bulletin No. 29.)

Kien, E., La situation phylloxérique actuelle de la Tunisie. (Rev. de viticult. Année XV. 1908. N. 772. p. 384—385.)

Krüger, Friedrich, Untersuchungen über die Fußkrankheit des Getreides. (Arb. a. d. k. biol. Anst. f. Land- u. Forstwirtsch. Bd. VI. 1908. p. 321—351. 1 Taf.)

Lefroy, H. Maxwell, The rice bug (Leptocorisa varicornis, Fabr.) Pusa (Agric. Research Inst.) 1908. 13 p. (= Memoirs of the Department of Agriculture in India. Entomol. Sér. Vol. II. No. 1.)

M. L., Sur la maladie du blanc du chêne causée par l'Oidium quercinum. (Rev. de viticulture. Année XV. 1908. N. 770. p. 323—324.)

Pierce, W. Dwight, Studies of parasites of the cotton boll weevil. Washington (Gov. Print. Off.) 1908. 63 p. 8⁰. (= U. S. Dep. of Agric. Bureau of Entomology. Bulletin No. 73.)

Quaintance, A. L., The lesser apple worm. Washington (Gov. Print. Off.) 1908. II S., p. 49—60. 8⁰. (Papers on deciduous fruit insects and insecticides.) (= U. S. Dep. of Agric. Bureau of Entomology. Bulletin No. 68. P. 5.)

—, The trumpet leaf-miner of the apple. Washington (Gov. Print. Off.) 1907. III S., p. 23—30. 8⁰. (Papers on deciduous fruit insects and insecticides.) (= U. S. Dep. of Agric. Bureau of Entomology. Bulletin No. 68. P. 3.)

Salmon, E. S., A new cherry disease. (Garden-Chron. Vol. XLIII. 1908. p. 209—210.)

Schander, Richard, Bericht über das Auftreten von Krankheiten und tierischen Schädlingen an Kulturpflanzen in den Provinzen Posen und Westpreußen. [1.] Für das Jahr 1907. Berlin (Deutsche Tageszeitung) 1908. 8⁰. (= Mitteilungen d. Kaiser Wilhelms Instituts f. Landw. in Bromberg. Bd. I. Heft 1.)

v. Schrenk, Hermann, Sap-rot and other diseases of the red gum. Washington (Gov. Print. Off.) 1907. 37 p. 8⁰. (= U. S. Dep. of Agric. Bureau of Plant Industry. Bulletin No. 114.)

Stevens, F. L., A bacterial disease of lettuce. (Rep. biol. North Carolin. Agr. exp. stat. 1908. p. 29—30.)

—, Sclerotia on carrots. (Rep. biol. North Carolin. Agr. exp. Stat. 1908. p. 31—32.)

—, The Chrysanthemum ray blight. (Rep. biol. North Carolin. Agr. exp. stat. 1908. p. 33—47.)

—, A serious lettuce disease. (Rep. biol. North Carolin. agr. exp. stat. 1908. p. 72.)

Stevens, F. L. and Hall, J. G., The Volutella rot. (North Carolina agr. exp. stat. 1907. Bull. 196. p. 41—55.)

— —, Notes on plant diseases occurring in North Carolina. (Rep. biol. North Carolina agr. exp. stat. 1908. p. 57—71.)

Stift, A., Ueber das Auftreten von Ramularia betae auf Samenfutterrüben. (Blätter f. Zuckerrübenbau. Jg. XV. 1908. N. 18. p. 277—279.)

Störmer, Neuere Ergebnisse in der Erforschung der Krankheiten der Zuckerrüben. (Schluß.) (Blätter f. Zuckerrübenbau. Jg. XV. 1908. N. 18. p. 279—283.)

Trabut, Maladie noire des artichauts. (Rev. hort. Algérie. T. XII. 1908. p. 81—83.)

Voglino, P., Il seccherecció delle foglie di Begonia (Phyllosticta begoniae). (Ann. R. Accad. agr. Torino. T. L. 1908. 10 p.)

—, Intorno ad un parassita dannoso al Solanum melongena. (Malpighia. Anno XXI. 1908. 11 p. 1 Taf.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

Lüstner, G., Ein gutes und billiges Mittel für die Bekämpfung des Heuwurmes. (Der Weinbau. Jg. VII. 1908. N. 7. p. 113—114.)

Meissner, R., Versuch zur Bekämpfung der Reblaus mit Reflorit. (Weinbau und Weinhandel. Jg. XXVI. 1908. N. 40. p. 362.)

Meissner, R., Einige Bemerkungen zu dem Peronospora-Bekämpfungsmittel von Herrn Dr. Rumm-Stuttgart. (Der Weinbau. Jg. VII. 1908. N. 7. p. 105.)

Ueber die diesjährigen Erfahrungen bei der Heu- und Sauerwurmbekämpfung. (Mitt. d. Dtschn. Weinbau-Ver. Jg. III. 1908. N. 9. p. 292—307.)

Wanner, A., Das Kulturalverfahren im Kampfe gegen die Reblaus. (Schluß.) (Weinbau u. Weinhandel. Jg. XXVI. 1908. N. 40. p. 362.)

Corrigendum.

In der Arbeit von W. S. Sayer, Otto Rahn und Bell Farrand, „Die Haltbarkeit der Butter in Kalthäusern" Bd. XXII. No. 1/3 muß es heißen

auf Seite 24, Zeile 2 von oben „6- und 9-monatlicher" statt 5- und 8-monatlicher,
„ „ 24, Tabelle I in Probe XIX u. XX, Kolonne b, c, d, e „1,6" statt 16, und in Kolonne f, g „1,5, 1,8" statt 15, 18,
„ „ 24, Zeile 24 von unten bei „Azidität[1]" ist folgende Anmerkung einzufügen: 1) Die Azidität ist in ccm Normal-Säure für 100 g Butter gegeben.
„ „ 25, Tabelle II nach IX ist eine Linie zu ziehen,
„ „ 27, Zeile 8 von unten „Butterproben" statt untersuchten Proben,
„ „ 30, „ 3 von oben „bis 13" statt bis 137,
„ „ 32, „ 11 von oben „Zunahme" statt Vermehrung.

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Abgeschlossen am 19. Dezember 1908.

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XXII. No. 11|13.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Die Hauptlinien des natürlichen Bakteriensystems.

Von Dr. **Orla Jensen**, Prof. am dänischen Polytechnikum, Kopenhagen.

Mit 1 Figur.

Ebenso wie man bei der Klassifikation der Mineralien das Hauptgewicht auf die chemische Konstitution legt, und erst in zweiter Linie die Kristallform berücksichtigt, so sollte man auch bei der Einteilung der Lebewesen mehr Gewicht auf die inneren Eigenschaften als auf die äußere Form legen [1]). Dies bezieht sich ganz besonders auf die Bakterien, die so klein sind, daß viele Arten — trotz der großen Fortschritte der mikroskopischen Technik — noch immer an der Grenze der Sichtbarkeit liegen.

Nichtsdestoweniger berücksichtigen alle Systematiker nur das Aussehen der Bakterien. Ob ein Stäbchen nicht länger als breit, oder ob es mehr oder weniger gekrümmt ist, sind die wichtigsten Anhaltspunkte. Da man betreffs der Hefen solche Merkmale höchstens zur Aufstellung verschiedener Gattungen, aber nie verschiedener Familien benutzen würde, ist es nicht einzusehen, mit welchem Recht man bezüglich der Bakterien anders verfährt. Es ist natürlicher, anzunehmen, daß in jeder Bakterienfamilie neben stäbchenförmigen Arten auch kugel- und schraubenförmige sich entwickeln können, und in der Tat kennen wir biologisch scharf abgegrenzte Familien, wie z. B. die roten Schwefelbakterien, in welchen nicht nur diese drei Hauptformen, sondern auch mehrere eigentümliche Zwischenformen vorkommen.

Ob die Bakterien sich nach einer oder mehreren Raumrichtungen teilen können, scheint größere systematische Bedeutung zu haben. Sobald man aber kein entscheidendes Gewicht auf die Zellform legt, so kann die Teilungsweise auch nur eine untergeordnete Rolle spielen; denn die letztere ist eine einfache Folge der ersteren. Die Regel ist nämlich, daß die Teilung stets quer auf die Längsachse stattfindet; haben indessen die Zellen keine ausgesprochene Längsachse, so wird auch eine Teilung nach verschiedenen Richtungen möglich sein. Aus Streptokokken werden sich deshalb Mikrokokken und aus diesen wiederum Sarcinen entwickeln können. Sogar bei ein und derselben Art treffen wir oft Aenderungen in der Teilungsweise. Konstant kommt dies vor bei Azotobacter und Crenothrix, die sich zuerst nach einer und später nach drei Richtungen teilen, und bei der Purpurbakterie Lamprocystis, bei welcher die Teilung zuerst nach drei und später nach zwei Richtungen stattfindet.

Eine wenigstens ebenso große systematische Bedeutung, wie die vorerwähnten morphologischen Eigenschaften, muß dem Umstand zugeschrieben werden, ob die Bakterien Sporen bilden können oder nicht. Jedenfalls bilden die Hauptrepräsentanten der Sporenformen, die Heu-

1) Die ersteren bedingen die letztere und nicht umgekehrt.

bakterien und die Buttersäurebakterien, in biologischer Beziehung charakteristische Gruppen.

Ob die Bakterien beweglich sind oder nicht, hat keine systematische Bedeutung; denn nach den Untersuchungen von Ellis[1]) müssen wir annehmen, daß jede unbewegliche Bakterienart mehr oder weniger leicht in einen beweglichen Zustand übergeführt werden kann. Als Meeresbewohner waren wahrscheinlich alle Bakterien ursprünglich beweglich, und wenn heutzutage gewisse Arten (z. B. die Milchsäurebakterien und viele pathogene Bakterien[2]) konstant unbeweglich auftreten, so mag dies daher rühren, daß sie sich durch mehrere Generationen in so günstigen Nährböden entwickelt haben, daß die Beweglichkeit überflüssig geworden ist.

Systematische Bedeutung hat dagegen, wie wir später sehen werden, die Weise, in welcher die Geißeln bei den beweglichen Bakterien angebracht sind, und ich habe deshalb meine Nomenklatur zum Teil auf dieses Merkmal basiert. Stäbchenformen mit polaren Geißeln werden als Monas und solche mit diffusen Geißeln als Bacterium bezeichnet[3]). Sporentragende Stäbchen werden Bacillus genannt. Vibrio, Spirillum, Streptococcus, Micrococcus und Sarcina werden im gewöhnlichen Sinne benutzt. Aus den vorstehenden morphologischen Bezeichnungen bilde ich meine Gattungsnamen durch das Voransetzen einer oder mehrerer Silben, welche auf biologische Eigenschaften der Bakterien hindeuten.

Zur Beurteilung der inneren Eigenschaften der Bakterien geben bereits die kulturellen Merkmale wichtige Fingerzeige. So zeigen sie direkt das größere oder geringere Bedürfnis der betreffenden Art zu Sauerstoff und zu den verschiedenen Nährstoffen sowie manches bezüglich ihrer Enzymproduktion. Lediglich auf Grund der kulturellen Eigenschaften lassen sich alle Bakterien in folgende Hauptgruppen einreihen:

1) Bakterien, die ebenso wie die grünen Pflanzen weder organischer Kohlenstoffquellen noch organischer Stickstoffquellen bedürfen. Diese sogenannten autotrophen Bakterien können sowohl Kohlenhydrate als auch Proteinstoffe aus Kohlensäure und anorganischen Salzen aufbauen.

2) Bakterien, die organischer Kohlenstoffquellen bedürfen, die aber organischer Stickstoffquellen entbehren können. Diese Bakterien vermögen Proteinstoffe aus Kohlenhydraten (oder organischen Säuren) und aus Ammoniak, Stickstoff oder Nitraten aufzubauen.

3) Bakterien, die ebenso wie die Tiere sowohl organischer Kohlenstoffquellen als auch organischer Stickstoffquellen bedürfen. Diese Bakterien können aus anorganischer Substanz weder die Kohlenhydrat- noch die Eiweißsynthese vornehmen.

Wenn wir von den Nahrungsansprüchen der Bakterien auf ihre synthetischen Fähigkeiten schließen, so stützen wir uns auf die chemischen Tatsachen, daß ihre Zellen aus Kohlenhydraten und Proteinstoffen be-

---

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 546 und ebendaselbst. Bd. XI. 1904. p. 231.

2) Wir wollen in diesem Zusammenhang daran erinnern, daß auch viele parasitische Tiere mehr oder weniger unbeweglich sind.

3) Für die unbeweglichen Bakterienarten werden natürlicherweise analoge Bezeichnungen wie für die nächstverwandten beweglichen Arten benutzt. So nenne ich z. B. Nitrobacter Nitromonas, weil kein Zweifel über seine nahe Verwandtschaft mit Nitrosomonas herrschen kann.

stehen. Sie enthalten auch Fett, was aber in diesem Zusammenhang weniger Interesse hat, weil dieser Stoff ebensowie bei den Pflanzen [1]) normalerweise mit Kohlenhydrat als Zwischenglied gebildet wird. Aus den zahlreichen Analysen der Leibsubstanz der Bakterien geht hervor, daß 52—80 Proz. der Trockensubstanz aus Proteinstoffen bestehen, und daß sie Mucin und Chitin, aber keine echte Cellulose enthält. Die Bakterien nähern sich somit in chemischer Beziehung den niederen Tieren. Andererseits zeigen die Fadenbakterien in morphologischer Beziehung die allergrößte Aehnlichkeit mit den blaugrünen Algen, so daß es keinem Zweifel unterliegt, daß die Bakterien die Mittelstellung zwischen Tieren und Pflanzen einnehmen, was auch zur Genüge aus obiger biologischer Einteilung hervorgeht. Da die Bakterien einfacher gebaut sind als alle bekannten Tiere und Pflanzen, kann man ferner schließen, daß diese beiden Reiche von Lebewesen ihren Ursprung in den Bakterien suchen müssen.

Die nächste Frage, welche wir zu erörtern genötigt sind, bevor wir unsere eigentliche Aufgabe in Angriff nehmen können, ist die, ob die Tiere oder die Pflanzen älter sind. Vom morphologischen Standpunkt aus scheinen es die Tiere zu sein; denn einzelne Flagellaten haben eine nicht geringe Aehnlichkeit mit den gewöhnlichen Wasserbakterien, die mit polaren Cilien versehen sind (eine Aehnlichkeit. die eben in der für diese Bakterien verwendeten Bezeichnung Monas ausgedrückt ist), während die Pflanzen, wie erwähnt, erst durch die hochstehenden Fadenbakterien ihre natürliche Anknüpfung finden. Man gelangt indessen zu dem entgegengesetzten Resultat durch folgende oberflächliche biologische Betrachtung: „Selbstredend haben die ersten Organismen hier auf der Erde sich ohne organische Nahrung entwickeln müssen; da kein Tier dies vermag, müssen die Pflanzen älter sein. Alle Tiere leben direkt oder indirekt (durch die pflanzenfressenden Tiere) von Pflanzen; daher ohne Flora keine Fauna.“ Dieses Räsonnement verliert indessen jede Stütze, wenn wir der obigen Betrachtungsweise gemäß davon ausgehen, daß die autotrophen Bakterien die ersten Lebewesen sind. Diese haben nämlich den Protozoen als Nahrung dienen können. Die Protozoen werden von Rädertieren, diese von Crustaceen und Insektenlarven, Crustaceen und Insekten wieder von Fischen, Amphibien, Reptilien und Vögeln verzehrt, welche endlich den Säugetieren als Nahrung dienen können. Von einem reinen Ernährungsstandpunkt aus wäre somit kein Hindernis dagegen, daß alle acht Reihen des Tierreiches sich vor den Pflanzen entwickelt hätten. Eine so große Einseitigkeit würde jedoch aus einem anderen Grund unmöglich gewesen sein; denn ohne die Tätigkeit der Pflanzen würde sehr bald Sauerstoffmangel eingetreten sein, besonders weil die Luft in den ältesten Erdperioden sehr kohlensäurehaltig war. Es wird daher kaum ein reiches Tierleben vor der Entwickelung der Pflanzen existiert haben. Die geologischen Untersuchungen sprechen indessen dafür, daß die Tiere wenigstens ebenso alt als die Pflanzen sind, und man findet sogar so hochstehende Tierformen, wie die Riesenkrebse Eurypterus und Pterygotus weit zurück im Algonkium, zu einer

1) Unter Pflanzen verstehen wir in dieser Arbeit nur chlorophyllführende Organismen, indem wir von den nicht-grünen saprophytischen und parasitischen Pflanzen, die wegen ihrer übrigen hohen Entwickelung als degenerierte echte Pflanzen aufzufassen sind, völlig absehen.

Zeit, von welcher noch keine Spuren von Pflanzenresten bekannt sind [1]). Aller Wahrscheinlichkeit nach haben sich die Pflanzen nicht so früh wie die Tiere entwickeln können; denn es war ohne Zweifel finster auf der Erde zur Zeit, wo die Existenzbedingungen des organischen Lebens begannen. Bei einer Temperatur von 70—50° muß die Erde in einen so dichten Nebel eingehüllt gewesen sein, daß kein Sonnenstrahl bis zur Oberfläche hineindringen konnte [2]). Bis das Licht eine gewisse Stärke erreichte, ist es kaum anzunehmen, daß die farblosen Organismen Chlorophyll oder andere Farbstoffe, womit sie diese Energiequelle ausnutzen könnten, zu bilden anfingen, und erst als dies geschah, war der Grund der später so üppigen Entwickelung des Pflanzenreichs gelegt. Das Ergebnis dieser Erörterung ist also, daß niedrige Tiere wahrscheinlich existiert haben, bevor die Pflanzen entstanden, daß aber ein reichliches Pflanzenwachstum (so wie es z. B. in der Kohlenformation stattfand) eine notwendige Bedingung für die weitere Entwickelung des Tierreichs war.

Dieses Resultat liefert einen wertvollen Beitrag zur Phylogenie der Bakterien, indem wir daraus schließen dürfen, daß wenn auch Bakterien, welche Tierreste auszunützen vermögen, in einem früheren Stadium existiert haben als solche, die vorzugsweise von Pflanzenresten leben, doch in der Regel die eigentlichen Kohlenhydratvergärer älteren Ursprungs sein werden als die typischen Fäulnisbakterien. Ein natürlicherer Entwickelungsgang läßt sich auch nicht denken. Nach den Bakterien der ersten Gruppe (siehe die biologische Einteilung) folgen diejenigen der zweiten und dann diejenigen der dritten. Es darf hier nicht vergessen werden, daß die Proteinstoffe außer Stickstoffquelle auch Kohlenstoffquelle sein können. Viele Bakterien der dritten Gruppe können sich deshalb ebensowie die fleischfressenden Tiere mit Proteinstoffen (oder Peptonen) allein begnügen, und daraus sich nicht nur die nötige Energie verschaffen, sondern auch Kohlenhydrate (Zellwandbestandteile) und Fett bilden. Da das eiweißzersetzende Vermögen mit der Fähigkeit zum Ausscheiden von proteolytischen Enzymen wächst, so folgt aus dem Vorstehenden, daß die gelatineverflüssigenden Bakterien sich in der Regel aus den verwandten nicht-gelatineverflüssigenden Arten entwickelt haben. Aus demselben Gedankengang entspringen die folgenden wichtigen Anhaltspunkte: Da nur die verhältnismäßig spät auftretenden Säugetiere Milchzucker zu erzeugen imstande sind, so müssen milchzuckervergärende Mikroorganismen jünger sein als verwandte Arten, welche dieses Kohlenhydrat nicht angreifen. Ebenso müssen wir annehmen, daß die typischen Urobakterien verhältnismäßig neuen Ursprungs sind. Ferner ist es selbstverständlich, daß sich die harmlosen Parasiten (z. B. die normalen Bewohner des Verdauungskanals und der Luft- und Geschlechtswege) aus den Saprophyten und die pathogenen Formen wieder aus den Parasiten entwickelt haben. Daß eine pathogene Bakterie avirulent wird, ist demnach ein einfacher Atavismus. Zu den allerspätesten Mikroorganismen gehören natürlicherweise die spezifischen Krankheitsbakterien des Menschen. Diese haben daher — als die äußersten Zweige auf dem großen Stammbaum der Bakterien — wenig Interesse für die vorliegende Aufgabe.

---

1) Wallcott, Precambrian fossiliferous formations. (Bulletin of the Geological Society of America. Vol. X. 1899. p. 199.)

2) Der Planet Venus, dessen Mitteltemperatur auf 40° geschätzt wird, befindet sich zum Teil noch in diesem Entwickelungsstadium. (Arrhenius, Världarnas Utveckling. Stockholm 1907. p. 40.)

Wir dürfen jedoch nur von solchen pathogenen Bakterien, die Blutserum beanspruchen oder überhaupt nicht auf künstlichen Substraten gedeihen, schließen, daß sie spät entstanden sind; vermögen sie dagegen auch saprophytisch zu leben, so können sie ebensowohl als andere giftige Organismen alten Ursprungs sein.

Während wir im vorhergehenden das Hauptgewicht auf die Aufbauprozesse der Bakterien gelegt haben, wollen wir im folgenden auf ihre Abbauprozesse näher eingehen. Die Arbeit, die bei der echten Gärung ausgeführt wird, zerfällt in drei Phasen: Die Aufnahme der Energiequellen, deren Spaltung oder Oxydation und die Ausscheidung der Gärungsprodukte. Während man früher die Aufnahme und Ausscheidung als einfache Diffusionsprozesse auffaßte und in den Spaltungen und Oxydationen wirkliche Lebensäußerungen zu sehen vermutete, so wissen wir nunmehr, daß der Sachverhalt ein ganz anderer ist. Overton[1]) hat nämlich gezeigt, daß die äußerste Schicht des Protoplasmas bei Tieren wie auch bei Pflanzen außer für Wasser nur für solche Stoffe permeabel ist, welche in Oel oder Fettlösungsmitteln löslich sind. Die lebende Zelle ist somit undurchdringlich nicht nur für kolloidale Substanzen, sondern auch für alle Zuckerarten und für die meisten Eiweißzersetzungsprodukte und Salze[2]). Wenn nun diese Stoffe die Plasmahaut gleichwohl passieren, so ist dies einer Lebenstätigkeit zuzuschreiben, die nur noch wenig aufgeklärt ist. Die Spaltung und die Oxydation sind dagegen Prozesse, die nicht direkt vom Leben der Zellen abhängen, sondern von chemischen Stoffen, den Enzymen, auch nach dem Eintritt des Todes besorgt werden. In allen Fällen, in welchen die Energieversorgung der Zellen die Absicht des Abbaues ist, muß dieser Prozeß (wie soeben geschildert) notwendigerweise im Protoplasma selbst stattfinden. Anders bei der unechten Gärung[3]), die in einfachen hydrolytischen Spaltungen besteht, welche meistens nur die Ueberführung der Nährstoffe in eine für die Zellen leichter aufnehmbare Form bezwecken. Dieser „Veränderungsprozeß" ist natürlicherweise in der Regel ein extracellulärer Vorgang. So bei den meisten Mikroorganismen und bei den höheren Tieren. Bei den niedersten Tieren dagegen, die keinen Verdauungskanal besitzen, und von Organismen, die kleiner als sie selber sind (z. B. von Bakterien), leben, würde eine Exkretion von proteolytischen Enzymen unökonomisch sein, und öfters die Wirkung völlig verfehlen, weshalb sie ihre Nahrung in toto aufnehmen. Sie müssen daher nackt sein. Da man von einem einseitigen morphologischen Standpunkt aus geneigt wäre, Organismen mit Zellwand für eine höhere Entwickelungsstufe als solche ohne Zellwand zu bezeichnen, so muß hier hervorgehoben werden, daß die Nacktheit der Zelle erst dann als eine notwendige Lebensbedingung auftritt, sobald organisierte Nahrung aufgenommen werden soll. Vom biologischen Standpunkt aus betrachtet, brauchen deshalb die nackten Organismen, welche ein selbständiges Dasein führen (wie z. B. die Amöben), ebensowenig wie diejenigen, welche einen Teil eines höheren Lebewesens ausmachen (wie z. B. die Leukocyten), niedriger als die mit Zellwand versehenen Organismen zu stehen. Wie bereits erwähnt, sind es vornehmlich die Bakterien, welche von komplizierten Ver-

1) Zeitschrift f. physik. Chemie. Bd. XXII. 1897. p. 189.

2) Die im Bakterienreiche vorkommenden Ausnahmen von dieser Regel werden wir später besprechen.

3) Ueber echte und unechte Gärungen siehe meine Arbeit „Studien über die Enzyme im Käse". (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VI. 1900. p. 838.)

bindungen leben, die Ektoenzyme erzeugen, während die autotrophen Organismen nur Endoenzyme nötig haben. An Stelle der Ektoenzyme treten hier in vielen Fällen gewisse Säuren, welche auf die anorganischen Nährstoffe lösend wirken, so z. B. bei den nitrifizierenden Bakterien salpetrige Säure, bei den Schwefelbakterien Schwefelsäure und bei den Pflanzen Kohlensäure.

Wir werden nun eine Uebersicht über die wichtigsten echten Gärungen geben, und zwar zuerst die Oxydationsprozesse und dann die Spaltungsprozesse behandeln. Da, wie erwähnt, die Bakterien sich mittels der echten Gärungen die Energie zu verschaffen suchen, die sie für ihre Lebenstätigkeit und für die mit dem Wachstum und der Vermehrung folgenden Synthesen (endothermen Prozesse) nötig haben [1]), so ist das Wesentlichste bei diesen Gärungen die Wärmemenge, welche dabei freigemacht werden kann, und ich habe deshalb überall die Wärmetönung berechnet. Bei diesen Berechnungen wird vorausgesetzt, daß sich die löslichen Stoffe — so speziell auch die Kohlensäure — im gelösten Zustande befinden [2]). Da nur die intracelluläre Wärmetönung für die Mikroorganismen direkte Bedeutung hat, geht es uns in diesem Zusammenhang nichts an, ob die Kohlensäure, nachdem sie ausgeschieden ist, in Gasform übergeht und dadurch einen Wärmeverlust verursacht, oder ob andere ausgeschiedene Säuren (z. B. salpeterige Säure und Schwefelsäure) sich mit Karbonaten umsetzen und dadurch Wärme entwickeln. Als Einheit für die Wärmetönung sind Kg. Kal. per Gramm reagierenden Stoffes gebraucht. Es läßt sich nicht hier so wie in der Tierphysiologie der Kalorienwert der einzelnen Nährstoffe berechnen. Bei einem Oxydationsprozeß z. B. muß der Sauerstoff ebensowohl als der zu oxydierende Stoff als Energiequelle aufgefaßt werden, was am deutlichsten aus den komplizierteren Gärungen (z. B. aus der Gärung No. 5a) hervorgeht, bei welchen die Oxydation einer Substanz öfters von der Reduktion einer anderen begleitet ist. Da die Gärungen nie genau nach den aufgestellten Gleichungen verlaufen, so darf man der berechneten Anzahl Kalorien nur einen gewissen relativen Wert zuschreiben. Bezüglich der Alkoholgärung hat Max Rubner [3]) mittels direkter Messungen eine sogar sehr bedeutende Abweichung konstatiert, nämlich per Grammmolekül Traubenzucker 35 Kal. statt 50 Kal., was sich nur in geringem Grade durch Glykogenbildung und andere synthetische Prozesse erklären läßt.

Für die Oxydationen benutzen die Bakterien entweder freien oder gebundenen Sauerstoff. Es mag sein, daß der Unterschied nur scheinbar ist, und daß der Sauerstoff ebensowie bei den Pflanzen und den höheren

1) Da die Mikroorganismen meistens ihre eigenen Gärungsprodukte besser vertragen, als die von anderen erzeugten, so können diese Produkte ihnen im Kampfe ums Dasein nützlich sein. Wortmann hat sogar in diesem Umstand den Grund gesucht, warum die Gärungen öfters weiter um sich greifen, als zur Erzeugung der hinreichenden Energie nötig wäre (Bericht d. Kgl. Lehranstalt Geisenheim. 1900—1901. p. 92). Der Grund kann aber auch einfach der sein, daß die Enzyme „durchgehen", wenn die Zellen abgeschwächt werden (wenn sie Fieber bekommen). Sogar tote Mikroorganismen, die ja gar keiner Energie bedürfen, können bekanntlich Gärungen hervorrufen. Ich habe z. B. gezeigt, daß die Reifung der Hartkäse zum wesentlichen Teil darin besteht, daß die Autolyse sich von den Bakterienzellen zu dem umgebenden Substrat ausbreitet. (Landwirtschaftliches Jahrbuch der Schweiz. 1906. p. 303).

2) Als Bildungswärme der Verbindungen sind die von Julius Thomsen gefundenen Werte benutzt, insofern sie in seinem Werke „Systematische Durchführung thermochemischer Untersuchungen" 1906 aufgeführt sind. Es wird jedoch nur mit abgerundeten Zahlen gerechnet, was für den vorliegenden Zweck genügt.

3) Archiv f. Hyg. Bd. XLIX. 1904. p. 355.

Tieren vor der Verwendung immer zuerst (bezw. als Superoxyde und Oxyhämoglobin) gebunden wird. Es ist indessen auch möglich, daß der Unterschied existiert, indem die Sauerstoffbindung bei den Pflanzen und Tieren hauptsächlich nur deshalb stattfindet, damit der Sauerstoff leichter zu den energiebedürftigen Zellen transportiert werden kann[1]), während bei den einzelligen Organismen ein solcher Transport natürlicherweise nicht vorkommt. Wir wollen zuerst die bakteriellen Oxydationen, die mittels des freien Sauerstoffes der Luft zustandezukommen scheinen, besprechen.

1. Die Oxydation des Wasserstoffes:

$$H_2 + O = H_2O + 69 \text{ Kal.} \qquad \text{Per Gramm } 3{,}83 \text{ Kal.}$$

Nach Kaserer[2]) wird dieser Prozeß von einigen monotrichen Kurzstäbchen ausgeführt, die von ausschließlich anorganischer Nahrung leben können, jedoch auch auf organischem Substrat gedeihen, weshalb er sie Bacillus pantotrophus genannt hat. Nach B. Niklewski[3]) wächst dieser Organismus nur im Verein mit anderen Bakterien autotroph. Nach meiner Nomenklatur kann man ihm passend den Gattungsnamen Hydrogenomonas geben.

2. Die Oxydation der Kohlenstoffverbindungen.

a) Die Oxydation des Methans:

$$\underset{21}{CH_4} + 2\,O_2 = \underset{103}{CO_2} + \underset{2\times 69}{2\,H_2O} + 220 \text{ Kal.} \qquad \text{Per Gramm } 2{,}75 \text{ Kal.}$$

Nach N. L. Söhngren[4]) wird dieser Prozeß von autotrophen, monotrichen Kurzstäbchen ausgeführt, die er Bacillus methanicus genannt hat, und welchen ich mir erlaube, den Gattungsnamen Methanomonas beizulegen.

b) Die Oxydation des Kohlenoxyds:

$$\underset{29}{CO} + O = \underset{103}{CO_2} + 74 \text{ Kal.} \qquad \text{Per Gramm } 1{,}68 \text{ Kal.}$$

Nach Kaserer[5]) wird dieser Prozeß von einem autotrophen, unbeweglichen Kurzstäbchen ausgeführt. Dasselbe soll identisch sein mit dem früher von Beijerinck und van Delden[6]) beschriebenen Bacillus oligocarbophilus, von welchem diese Forscher bereits gezeigt hatten, daß er eine in der Luft vorhandene Kohlenstoffverbindung, die nicht Kohlensäure war, benutzte. Wir werden dieser Bakterie den Gattungsnamen Carboxydomonas geben[7]).

1) Die Pflanzen bilden auch hoch oxydierte Verbindungen (z. B. Pflanzensäuren), um einen Sauerstoffvorrat zu haben, den sie für die Atmung benutzen können, wenn die Sauerstoffzufuhr abnimmt. Demgemäß werden dann auch bei der Reifung des Obstes die Pflanzensäuren zu Zucker oder Alkoholen (Fruchtestern) reduziert.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. p. 681.

3) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XX. 1908. p. 469.

4) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1906. p. 513.

5) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. p. 681.

6) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903. p. 33.

7) Ich stelle vorläufig für jede autotrophe Bakterienart eine neue Gattung auf, weil diese Organismen in biologischer Beziehung so sehr verschieden sind, und ich nicht bezweifle, daß man für jede dieser Gattungen zahlreiche Arten finden wird, sobald das Studium nach dieser Richtung weiter ausgetieft wird.

c) Von den vielen Oxydationen der organischen Verbindungen wollen wir hier nur die einfachste, nämlich die Essigsäuregärung, besprechen:

$$\underset{72}{C_2H_6O} + O_2 = \underset{118}{C_2H_4O_2} + \underset{69}{H_2O} + 115 \text{ Kal.} \qquad \text{Per Gramm } 1{,}47 \text{ Kal.}$$

Die Essigsäurebakterien sind, soweit bekannt, ebensowie die vorhergehenden Bakterien monotriche oder unbewegliche Stäbchen, die sich auf der Oberfläche der Nährflüssigkeiten zu einer Haut ausbreiten. Ich habe ihnen daher den Gattungsnamen Acetimonas gegeben. Von den Schnellessigbakterien bis zu den Essigbildnern des Weines und des Bieres steigen die Ansprüche auf organische Nahrung. Bekanntlich gedeihen die Schnellessigbakterien (z. B. B. Schüzenbachi) mit Aethylalkohol als einzige Kohlenstoffquelle. Es ist jedoch kaum wahrscheinlich, daß Alkohol die erste Kohlenstoff- und Energiequelle war, die den Essigsäurebakterien hier auf der Erde zur Verfügung stand; dies sind eher Kohlenhydrate gewesen, welche sie ja auch in höherem oder geringerem Grade zu oxydieren imstande sind. Nach meinen Untersuchungen können die meisten Essigsäurebakterien sich mit Salpeter als Stickstoffquelle begnügen. Einzelne Arten (am stärksten B. aceti) reduzieren nach längerer Zeit kleinere Mengen Salpeter bis zum Ammoniak, eine Eigenschaft, die auch andere obligat aërobe Bakterien (so z. B. Azotobacter und gewisse Heubacillen) besitzen, und die zeigt, daß solche Bakterien außer dem freien Sauerstoff auch gebundenen verwenden können.

3. Die Oxydation der Stickstoffverbindungen. Hier soll nur die Nitrifikation erwähnt werden, die nach den Untersuchungen von Winogradsky[1]) in zwei Phasen verläuft, welche von verschiedenen Bakterien verursacht werden.

a) Die Nitritation:

$$\underset{222}{(NH_4)_2CO_3} + 3\,O_2 = \underset{2\times 30}{2\,HNO_2} + \underset{103}{CO_2} + \underset{3\times 69}{3\,H_2O} + 148 \text{ Kal.}$$

Per Gramm 0,76 Kal.

Dieser Prozeß wird von verschiedenen monotrichen Kurzstäbchen bewirkt, welchen Winogradsky bereits den Gattungsnamen Nitrosomonas verliehen hat.

b) Die Nitratation:

$$\underset{89}{KNO_2} + O = \underset{111}{KNO_3} + 22 \text{ Kal.} \qquad \text{Per Gramm } 0{,}22 \text{ Kal.}$$

Dieser Prozeß wird von einem unbeweglichen Kurzstäbchen, Nitrobacter, von mir Nitromonas genannt (siehe die Anm. 3 p. 306) ausgeführt.

Die nitrifizierenden Bakterien sind — trotz ihrer oxydierenden Eigenschaften — nicht Hautbildner, sondern entwickeln sich im untersten Teil der Nährflüssigkeit, da, wo die für ihr Wachstum so notwendige Kohlensäure am reichlichsten vorhanden ist. Wie bekannt, ist ganz besonders Nitrosomonas empfindlich gegenüber organischen Substanzen, was es wahrscheinlich macht, daß er zu den allerältesten Organismen gehört.

1) Annales Pasteur. 1890 und 1891.

Nach Coleman[1]) wirkt jedoch eine geringe Menge Traubenzucker fördernd auf die Nitrifikation, weshalb die Existenz obligat autotropher Bakterien überhaupt zweifelhaft erscheint. Nach Boullanger und Massol[2]) vertragen sowohl Nitrosomonas als auch Nitromonas verhältnismäßig große Mengen von Boraten, Fluoriden und Salzen der Schwermetalle, was im Einklang damit steht, sie als einige der ältesten Bakterien zu betrachten, denn das Wasser, das sich zuerst an der Erdoberfläche kondensierte, muß sicherlich sehr reich an den obengenannten vulkanischen Produkten gewesen sein.

Nach einer vorläufigen Mitteilung von Kaserer[3]) gehören noch viele andere Bakterien zu dieser Gruppe. Unter anderem beschreibt er einen Bacillus nitrator (Nitrosomonas nitrator), der Ammoniumkarbonat direkt zu Salpetersäure oxydiert, und einen Bacillus azotofluorescens, der dieses Salz nur bis zum elementaren Stickstoff, unter gleichzeitiger Bildung von Ameisensäure, oxydiert:

$$\underset{222}{(NH_4)_2CO_2} + O_2 = \overset{\text{Ameisensäure}}{\underset{102}{H_2CO_2}} + N_2 + \underset{3\times 69}{3\,H_2O} + 87\ \text{Kal.} \qquad \text{Per Gramm } 0{,}68\ \text{Kal.}$$

Beide Bakterien sind beweglich und vermögen auf Gelatine zu wachsen. Die letztere, die also autotroph Stickstoff entbindet, bindet umgekehrt Stickstoff, wenn sie Ameisensäure oder Kohlenhydrate zur Verfügung hat. Kaserer nimmt ferner an, daß es Bakterien gibt, die ohne organische Nahrung elementaren Stickstoff zu Salpetersäure oxydieren können:

$$N_2 + 5\,O + \underset{69}{H_2O} = \underset{2\times 49}{2\,HNO_3} + 29\ \text{Kal.} \qquad \text{Per Gramm } 0{,}23\ \text{Kal.}$$

4. Die Oxydation der Schwefelverbindungen. Wir werden hier nur auf die Oxydation des Schwefelwasserstoffes näher eingehen. Diese geht nach den Untersuchungen von Winogradsky[4]) ebenso wie die Oxydation des Ammoniaks in zwei Phasen vor sich, die indessen beide von denselben Bakterien verursacht werden.

a) Die Oxydation des Schwefelwasserstoffes zu Schwefel:

$$\underset{7}{H_2S} + O = \underset{69}{H_2O} + S + 62\ \text{Kal.} \qquad \text{Per Gramm } 1{,}24\ \text{Kal.}$$

b) Die Oxydation des Schwefels zu Schwefelsäure:

$$S + 3\,O + \underset{69}{H_2O} = \underset{210}{H_2SO_4} + 141\ \text{Kal.} \qquad \text{Per Gramm } 1{,}44\ \text{Kal.}$$

Wie bekannt, zerfallen die Schwefelbakterien in zwei große Familien, die der farblosen und die der roten. Wir wollen diese Thiobacteriaceae und Rhodobacteriaceae nennen. Inwieweit die farblosen Schwefelbakterien autotroph leben können, ist noch nicht völlig aufgeklärt. Nach Molisch[5]) scheint es dagegen festgestellt zu sein, daß die roten Schwefelbakterien Kohlensäure nicht assimilieren können. Der Farbstoff spielt gleichwohl eine Rolle bei der Ernährung dieser Organismen, indem sie allen anderen Bakterien entgegengesetzt am besten im direkten Sonnenlicht gedeihen. Da sie im Gegensatz zu den farblosen Schwefel-

---

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XX. 1908. p. 401.
2) Annales Pasteur. 1903 und 1904.
3) Zeitschr. f. das landw. Versuchswesen in Oesterreich. 1907. p. 37.
4) Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Bakterien. Heft 1. 1888.
5) Die Purpurbakterien nach neueren Untersuchungen. Jena 1907.

bakterien in Wasser, das mit Schwefelwasserstoff gesättigt ist, wachsen, so haben wir hier den Kulminationspunkt in der Anpassung gegenüber diesem Gift erreicht, und wir gehen kaum fehl, wenn wir annehmen, daß sich die Rhodobakterien aus den Thiobakterien in der gleichen Weise, wie sich die blaugrünen Algen aus den Fadenbakterien entwickelt haben, nämlich durch die Einwirkung des Lichtes. Die eigentümlichen Uebergangsformen Beggiatoa und Thiothrix deuten andererseits darauf hin, daß auch die Fadenbakterien von den Thiobakterien abstammen.

Außer den erwähnten Schwefelbakterien, die also zur vollständigen Ausnützung des Schwefelwasserstoffes ausgerüstet sind, gibt es nach Natanssohn[1]) und Beijerinck[2]) auch Bakterien, die Schwefelwasserstoff nur zu Schwefel oxydieren, und somit in demselben Verhältnis zu den ersteren stehen wie der Nitrosomonas zum Bacillus nitrator. Ein solches von Beijerinck näher beschriebenes Kurzstäbchen, Thiobacillus thioparus, benutzt die Kohlensäure der Luft als Kohlenstoffquelle und muß deshalb als eine der alleräItesten Schwefelbakterien betrachtet werden. Wir wollen ihm den Gattungsnamen Sulfomonas geben. Von diesem mikroskopisch nicht zu unterscheiden soll Sulfomonas (Thiobacillus) denitrificans sein, der auch autotroph lebt, und welcher Schwefel zu Schwefelsäure oxydiert. Dies geschieht jedoch nicht mittels des Luftsauerstoffes, sondern mit Salpeter als Oxydationsmittel:

$$\text{c) } 5\,S + \underset{6\times 111}{6\,KNO_3} + \underset{2\times 69}{2\,H_2O} = \underset{338}{K_2SO_4} + \underset{4\times 273}{4\,KHSO_4} + 3\,N_2 + 626 \text{ Kal.}$$

Per Gramm 0,78 Kal.

Dieser Organismus[3]) bildet also das natürliche Verbindungsglied zwischen den Schwefelbakterien und den denitrifizierenden Bakterien, welche wir jetzt besprechen werden. Hiermit gehen wir zu den bakteriellen Oxydationen über, die mittels gebundenen Sauerstoffes zustande kommen.

5. Die Denitrifikation. Während die Nitrifikation ein reiner Oxydationsprozeß zu sein scheint, wird im Gegensatz hierzu die Denitrifikation als ein reiner Reduktionsprozeß betrachtet, dessen Ursache im Sauerstoffbedürfnis der denitrifizierenden Bakterien zu suchen sei. Weder das eine noch das andere ist ganz zutreffend. Da die nitrifizierenden Bakterien Kohlensäure als Kohlenstoffquelle benutzen, so muß die Nitrifikation notwendigerweise von Reduktionsprozessen begleitet sein, und da die denitrifizierenden Bakterien obligat aërob sind[4]), d. h. daß sie die Kohlenhydrate nur oxydieren, aber nicht spalten (wenigstens nicht ohne gleichzeitige Oxydation) können, so muß andererseits die Denitrifikation notwendigerweise von Oxydationsprozessen begleitet sein. In der Tat ist jede Denitrifikation (genau wie im obenstehenden Beispiel) eine Oxydation mit gebundenem Sauerstoff, die wie andere echte Gärungen, um Energie zu erzeugen, vor sich geht. Meine Entdeckung, daß die denitrifizierenden Bakterien bedeutend mehr Peroxydase — also

1) Mitt. der Zoologischen Station zu Neapel. Bd. XV. 1903. p. 655.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904. p. 593.

3) Wenn ich Sulfomonas denitrificans näher den Schwefelbakterien als den denitrifizierenden Bakterien stelle, ist es, weil er nach Beijerinck sehr viele Eigenschaften mit dem Sulfomonas thioparus gemein hat, wie z. B. die Fähigkeit zur Oxydation von Thiosulfaten und Rhodanaten unter Ausscheidung von Schwefel.

4) Vergl. Ritter, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XX. 1907. p. 21.

mehr von einem Enzym, das locker gebundenen Sauerstoff auf andere Stoffe übertragen kann — als die meisten anderen Mikroorganismen bilden, leitete mich auf diesen Gedankengang ein [1], und meine späteren Versuche haben mir dessen Richtigkeit bewiesen. Zu diesem Zwecke habe ich je einen Repräsentanten der zwei Hauptgruppen der denitrifizierenden Bakterien näher studiert, Gruppen, denen wir passend die Gattungsnamen Denitromonas und Denitrobacterium verleihen können, weil sie aus monotrichen bezw. peritrichen Stäbchen bestehen. Die untersuchte monotriche Art war eine von Hohl [2]) aus Ziegenkot isolierte, fluoreszierende Bakterie, die den Salpeterstickstoff entbindet, ohne Nitrit als Zwischenprodukt auszuscheiden. Die peritriche Art war der von Burri und Stutzer gefundene Bacillus denitrificans II [3]), welcher Nitrat zuerst zu Nitrit, und dieses dann weiter zu elementarem Stickstoff reduziert. Um den Prozeß leichter kontrollieren zu können, wählte ich das einfach möglichste Oxydationsmaterial, nämlich Alkohol. Beide Bakterien wachsen vorzüglich in einer neutralen anorganischen Nährsalzlösung, welche 2 ‰ Kaliumnitrat und 1 Proz. Aethylalkohol enthält. Die Kultur der ersteren Bakterie reagierte nach der Vergärung des Salpeters mit Phenolphtalein als Indikator genau neutral. Die Gärungsprodukte waren nebst Stickstoff eine der ursprünglichen Salpetersäuremenge äquivalente Menge Essigsäure und ein wenig Kohlensäure, weshalb man annehmen muß, daß der Prozeß folgenden Verlauf gehabt hat:

$$\text{a)}\quad \underset{12\times 111}{12\,KNO_6} + \overset{\text{Alkohol}}{\underset{13\times 72}{13\,C_2H_6O}} = 6\,N_2 + \overset{\text{Kaliumacetat}}{\underset{12\times 179}{12\,KC_2H_3O_4}} + \underset{2\times 103}{2\,CO_2} + \underset{21\times 69}{21\,H_2O} + 1535\ \text{Kal.} \left.\vphantom{\begin{matrix}1\\1\\1\end{matrix}}\right\} \begin{matrix}\text{Per}\\ \text{Gramm}\\ 0{,}90\,\text{Kal.}\end{matrix}$$

Die Kultur der anderen Bakterie reagierte, nachdem alles Nitrat und Nitrit verschwunden war, deutlich alkalisch, und von Gärungsprodukten ließ sich nebst Stickstoff nur noch Kohlensäure nachweisen. Man muß sich daher die Prozesse folgendermaßen denken:

$$\left.\begin{array}{l} \text{b)}\quad \underset{6\times 111}{6\,KNO_3} + \overset{\text{Alkohol}}{\underset{72}{C_2H_6O}} = \underset{6\times 89}{6\,KNO_2} + \underset{2\times 103}{2\,CO_2} + \underset{3\times 69}{3\,H_2O} + 209\ \text{Kal.} \\ \quad\ \ \underset{4\times 89}{4\,KNO_2} + \underset{72}{C_2H_6O} = 2\,N_2 + \underset{2\times 285}{2\,K_2CO_3} + \underset{3\times 69}{3\,H_2O} + 349\ \text{Kal.} \end{array}\right\}\ \text{Per Gramm 1,02 Kal.}$$

Die Versuche wurden mit Nährflüssigkeiten wiederholt, die außer 1 Proz. Alkohol auch 2 ‰ Traubenzucker enthielten. Das Resultat war das nämliche, d. h. diese Bakterien kümmern sich nicht um Kohlenhydrate, solange sie hinreichend Alkohol haben. In der Giltayschen Nährflüssigkeit oxydieren diese beiden Bakterien die Citrate zu Karbonaten, was zur Erzeugung der stark alkalischen Reaktion beiträgt. Da Denitromonas den Alkohol nur zur Essigsäure, während Denitrobacterium ihn bis zur Kohlensäure oxydiert, und da letzterer auch mehr Peroxydase ausscheidet, so müssen wir diesen als höher entwickelt, was das Sauerstoffübertragungsvermögen betrifft, betrachten, und es ist deshalb auch natürlich anzunehmen, daß die Gattung Denitrobacterium jünger ist als die Gattung Denitromonas.

---

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVIII. 1907. p. 211. Die denitrifizierenden Bakterien produzieren auch reichlich Katalase, wenn sie in günstigen Nährböden wachsen (dagegen nicht in der Milch, wie solche bei den früheren Versuchen verwendet wurde).

2) Landw. Jahrbuch der Schweiz. 1906. p. 510.

3) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. I. 1895. p. 257.

Außer den denitrifizierenden Bakterien, welche Nitrite und Nitrate mit der gleichen Leichtigkeit vergären, existieren bekanntlich auch solche, welche nur die eine dieser Salzgruppen angreifen können. So vergärt z. B. von den fluoreszierenden Bakterien der nicht-gelatineverflüssigende Bacillus denitricans I nach Weissenberg[1]) nur Nitrit und das gelatineverflüssigende Bacterium pyocyaneum nach Takahashi[2]) nur Nitrat. Gehen wir davon aus, daß das Ammoniak — als ein vulkanisches Produkt — die ursprüngliche Stickstoffquelle der Bakterien war, so müssen wir auch (mit den Kenntnissen, die wir von der Lebensweise der nitrifizierenden Bakterien haben) annehmen, daß hier auf der Erde Nitrit früher als Nitrat gebildet wurde, und demnach auch, daß die nitritreduzierenden Organismen älter als die nitratreduzierenden sind. Hiltner und Strömer[3]) haben autotrophe nitritreduzierende Bakterien beobachtet, und in der obenerwähnten Sulfomonas denitrificans haben wir ein Beispiel von einer autotrophen nitratreduzierenden Bakterie. Große Ansprüche auf organische Substanz stellen die denitrifizierenden Bakterien überhaupt nicht, wenn sie, wie ich gezeigt habe, ebenso wie die Schnellessigbakterien sich mit Alkohol als einzige Kohlenstoffquelle begnügen können. Es gibt jedoch einzelne Arten, die anspruchsvoller sind und sogar organische Stickstoffquellen verlangen. Je weniger organischer Nahrung die denitrifizierenden Bakterien bedürfen, desto früher haben sie sich selbstverständlich entwickeln können, und desto gefährlicher sind sie für die Landwirtschaft.

6. Die Desulfuration. Außer Nitriten und Nitraten sollen die denitrifizierenden Bakterien nach Ampola und Ulpiani[4]) auch Chlorate, Arseniate und Ferricyankalium als Oxydationsmittel verwerten können. Sulfate zu Schwefelwasserstoff zu reduzieren vermögen sie dagegen nicht. Diese Eigenschaft kommt den Vibrionen Microspira desulfuricans[5]), Vibrio hydrosulfureus[6]) und Microspira aestuarii[7]) zu. Erstere ist eine ausgeprägte Süßwasserform und letztere eine ausgeprägte Salzwasserform. Da diese Bakterien ziemlich luftscheu sind, kann hier der Grund der Reduktion nicht das Sauerstoffbedürfnis, sondern muß ausschließlich das Energiebedürfnis sein. Nach Beijerinck ist denn auch das Vorhandensein leicht oxydabler organischer Substanzen eine notwendige Bedingung für das Zustandekommen der Desulfuration. Da es von Interesse ist, sich zu überzeugen, in wieweit dieser Prozeß überhaupt möglich, d. h. exotherm ist, so habe ich die Wärmetönung für den einfachsten Fall, in welchem Gips mittels Alkohols reduziert wird, ausgerechnet:

$$\underset{3\times 322}{3\,CaSO_4} + \overset{\text{Alkohol}}{\underset{2\times 72}{2\,C_2H_6O}} = \underset{3\times 7}{3\,H_2S} + \underset{3\times 269}{3\,CaCO_3} + \underset{103}{CO_2} + \underset{3\times 69}{3\,H_2O} + 28\text{ Kal.} \left\} \begin{array}{l}\text{Per}\\ \text{Gramm}\\ 0{,}06\text{ Kal.}\end{array}\right.$$

1) Archiv f. Hyg. Bd. XXX. 1897. p. 274.

2) Ref. Biochemisches Centralblatt. Bd. IV. 1905/06. p. 671. Die Richtigkeit von Takahashis Behauptung ist später (1907 l. c.) von Ritter bestätigt worden.

3) Ref. Botanisches Centralblatt. Bd. LXXXV. 1904. p. 157.

4) Chemikerzeitung. Repertorium 1899. p. 150.

5) Beijerinck, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. I. 1895. p. 1. Beijerinck bezeichnete ursprünglich seine sulfatreduzierenden Bakterien als Spirillen, später hat er sie jedoch nach dem Vorgange von van Delden Microspira = Vibrio genannt.

6) Selinsky u. Brussilowsky, Compt. rend. des séances de la Soc. Balnéol. d'Odessa. 1898.

7) Van Delden, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1003. p. 81.

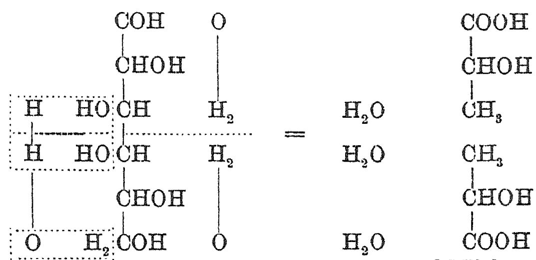
Wie man sieht, der Prozeß ist möglich, die dadurch gewonnene Energiemenge aber sehr gering. Etwas mehr Energie (ca. 0,1 Kal. per Gramm) kann aus Sulfiten und Thiosulfaten gewonnen werden. Obige Gleichung hat auch Interesse für die bei der Alkoholgärung stattfindende Sulfatreduktion. Hier ist es indessen bewiesen worden, daß eine Reduktase, die Philothion, die tätige Kraft ist, und da man noch nicht untersucht hat, mit welchen Enzymen die obigen Vibrionen arbeiten, läßt es sich zurzeit nicht entscheiden, ob die bakterielle Desulfuration — ebenso wie die Denitrifikation — als eine Oxydation mit gebundenem Sauerstoff aufgefaßt werden muß, oder ob sie ein wirklicher Reduktionsprozeß ist.

Wir gehen nun zu den Spaltungsgärungen über.

7. Die Milchsäuregärung:

$$\underset{300}{C_6H_{12}O_6} = \underset{2 \times 167}{2\,C_3H_6O_3} + 34 \text{ Kal.} \qquad \text{Per Gramm } 0{,}19 \text{ Kal.}$$

Diese scheinbar so einfache Gärung stellt sich jedoch, sobald wir die rationellen Formeln der Stoffe betrachten, als eine ziemlich komplizierte heraus. Am leichtesten läßt sie sich durch die folgende Umlagerung von Sauerstoff- und Wasserstoffatomen erklären:

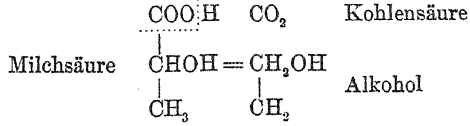


3 Wasser + 1 Traubenzucker = 3 Wasser + 2 Milchsäure

8. Die Alkoholgärung:

$$\underset{300}{C_6H_{12}O_6} = \underset{2 \times 72}{2\,C_2H_6O} + \underset{2 \times 103}{2\,CO_2} + 50 \text{ Kal.} \qquad \text{Per Gramm } 0{,}28 \text{ Kal.}$$

Nach E. Buchner und Meisenheimer[1]) wird bei der Alkoholgärung der Zucker zuerst mittels eines Enzyms, der Zymase, in Milchsäure, und diese dann mittels eines anderen Enzyms, der Lactacidase, sofort weiter in Alkohol und Kohlensäure gespalten:



Wie bekannt, sind es nur die Hefepilze und einzelne andere Eumyceten, die eine typische Alkoholgärung hervorrufen, indem die alkoholbildenden Bakterien in der Regel den größten Teil des Alkohols zu Essigsäure oxydieren. Auch diese letztere kann in der gleichen Weise wie die Milchsäure weiter gespalten und oxydiert werden, wodurch Ameisensäure entsteht. Da durch diesen Prozeß verhältnismäßig viel

1) Berichte der Deutschen chemischen Gesellschaft. Bd. XXXVIII. 1905. p. 620.

Energie gewonnen wird, nämlich 1,44 Kal. per Gramm, so produzieren die meisten Bakterien, die aus Zucker Essigsäure bilden können, auch stets größere oder geringere Mengen Ameisensäure. Endlich kann die Ameisensäure weiter gespalten werden zu Kohlensäure und Wasserstoff, Gase, die bei diesen gemischten Gärungen, deren Erzeuger zu der Coli- oder Aërogenes-Gruppe gehören, stets entwickelt werden. Nach Omelianski[1]) gibt es sogar Coli-Bakterien, die mit Vorliebe Formiate vergären, so z. B. Bacterium formicum. Da indessen bei diesem Prozeß nur äußerst wenig Energie (0,02 Kal. per Gramm Ameisensäure) gewonnen wird, so verläuft er sehr träge und kann überhaupt nur bei Gegenwart von Luft eingeleitet werden, indem die erste Wachstumsenergie durch die Oxydation eines Teils der Ameisensäure zu Kohlensäure und Wasser erschwungen werden muß.

Im Falle sämtliche Spaltungsprodukte oxydiert werden, liegt eine vollständige physiologische Verbrennung vor:

$$\begin{array}{rcll}
C_6H_{12}O_6 & = & 2\,C_3H_6O_3 \qquad\qquad\qquad\qquad + \ 34 & \text{Kal. Milchsäure} \\
2\,C_3H_6O_3 & = & 2\,C_2H_6O + 2\,CO_2 \qquad\qquad + \ 16 & \text{„ Alkohol} \\
2\,O_2 + 2\,C_2H_6O & = & 2\,C_2H_4O_2 \qquad\qquad + 2\,H_2O + 230 & \text{„ Essigsäure} \\
3\,O_2 + 2\,C_2H_4O_2 & = & 2\,CH_2O_2 + 2\,CO_2 + 2\,H_2O + 312 & \text{„ Ameisensäure} \\
O_2 + 2\,CH_2O & = & \qquad\qquad 2\,CO_2 + 2\,H_2O + 140 & \text{„} \\
\hline
6\,O_2 + C_6H_{12}O_6 & = & \qquad\qquad 6\,CO_2 + 6\,H_2O + 732 & \text{Kal. Per Gramm 1,97 Kal.}^{2)} \\
300 & & \qquad\qquad 6 \times 103 \quad 6 \times 69 &
\end{array}$$

Nicht nur bei den fakultativ anaëroben Bakterien geht die Verbrennung der Kohlenhydrate den oben angezeichneten Weg, sondern auch bei den Tieren und Pflanzen passiert sie eine oder mehrere der genannten Zwischenstufen. So ist es wohlbekannt, daß sich im tierischen Gewebe Milchsäure und im Pflanzengewebe Alkohol anhäuft, wenn die natürlichen Oxydationsprozesse gehemmt werden, und Stoklasa[3]) hat denn auch gezeigt, daß sowohl bei den Tieren wie auch bei den Pflanzen ähnliche glykolytische Enzyme wie bei den Hefen vorkommen. Jedenfalls ist die Milchsäure ohne Zweifel ein normales Zwischenglied bei allen Spaltungsgärungen, welche die Kohlenhydrate durchmachen können. So ist es Tatsache, daß gewisse Buttersäurebakterien und die von Freudenreich und mir beschriebenen Propionsäurebakterien[4]) Buttersäure und Propionsäure nicht nur aus Kohlenhydraten, sondern auch aus milchsauren Salzen bilden können. Ferner haben Grassberger und Schattenfroh[5]) nachgewiesen, daß die Buttersäurebakterien in der Regel mehr Milchsäure als flüchtige Säuren bilden; nur wenn diese Bakterien unter besonders günstigen Bedingungen — nämlich in der Milch — gezüchtet werden, geht die Gärung weiter, und es entstehen größere Mengen Buttersäure. Ebenso mit der Bernsteinsäuregärung. Nur Milchsäurebildner können aus Kohlenhydraten oder höheren Alkoholen Bernsteinsäure erzeugen, und sie sind nur dann imstande, die Gärung soweit zu führen, wenn ihnen zusagende Stickstoffquellen zur Verfügung stehen. Als Beispiel mag erwähnt werden der Befund von Omelianski, daß

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904. p. 177.

2) Rechnen wir die Anzahl der Kalorien per Gramm Traubenzucker aus, so gibt es 4,07 Kal., also sehr nahe 4,1 Kal., was ja im allgemeinen als der physiologische Brennwert des Zuckers betrachtet wird.

3) Archiv f. d. gesamte Physiologie. Bd. CI. 1904. und Zeitschr. f. physiologische Chemie. Bd. L. 1907. p. 303.

4) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVII. 1906. p. 529.

5) Arch. f. Hygiene. Bd. XXXVII. XLII u. XLVIII.

Bacterium formicum aus Mannit keine anderen nichtflüchtigen Säuren als Milchsäure bildet, wenn es nur Ammoniak als Stickstoffquelle hat, wogegen diese Bakterie auch reichliche Mengen Bernsteinsäure bildet, wenn ihr Pepton zur Verfügung steht. Wir wollen die drei letzteren Gärungen etwas näher besprechen.

9. Die Bernsteinsäuregärung. Diese Gärung wird von verschiedenen fakultativ anaëroben Bakterien, so z. B. von vielen Coli- und Proteus-Arten, verursacht. Da hierdurch nebst Bernsteinsäure auch verschiedene flüchtige Säuren und Wasserstoff, ja bisweilen auch Kohlenwasserstoff gebildet werden, kann man annehmen, daß der Prozeß nach den folgenden Gleichungen verläuft:

$$\text{a)}\ \underset{2\times 167}{\overset{\text{Milchsäure}}{2\,C_3H_6O_3}} = \underset{223}{\overset{\text{Bernsteinsäure}}{C_4H_6O_4}} + \underset{118}{\overset{\text{Essigsäure}}{C_2H_4O_2}} + H_2 + 7\ \text{Kal.}$$

Per Gramm (Zucker) 0,23 Kal.[1]).

$$\text{b)}\ \underset{2\times 167}{\overset{\text{Milchsäure}}{2\,C_3H_6O_3}} = \underset{223}{\overset{\text{Bernsteinsäure}}{C_4H_6O_4}} + \underset{102}{\overset{\text{Ameisensäure}}{CH_2O_2}} + \underset{21}{CH_4} + 12\ \text{Kal.}$$

Von flüchtigen Säuren entsteht außer Essigsäure und Ameisensäure meistens auch Propionsäure. Dieselbe kann mit großem Energiegewinn dadurch erzeugt werden, daß der Wasserstoff in statu nascendi die Milchsäure reduziert:

$$\text{c)}\ H_2 + \underset{167}{\overset{\text{Milchsäure}}{C_3H_6O_3}} = \underset{123}{\overset{\text{Propionsäure}}{C_3H_6O_2}} + \underset{69}{H_2O} + 25\ \text{Kal.}$$

Analog mit diesem Prozeß ist die Reduktion der Aepfelsäure zur Bernsteinsäure, die nach Emmerling[2]) von verwandten Organismen (Bacterium lactis aërogenes) ausgeführt wird. In diesem Zusammenhange soll auch an das Vermögen der Bernsteinsäurebakterien, Nitrat zu Nitrit reduzieren zu können[3]), erinnert werden.

10. Die Propionsäuregärung. Die höchste Entwickelung nach der Richtung, Propionsäure zu bilden, haben die spezifischen Propionsäurebakterien erreicht. Da diese meistens ein Molekül Milchsäure zu Kohlensäure und Essigsäure spalten und oxydieren, währenddem sie zwei andere Milchsäuremoleküle zu Propionsäure reduzieren, kann die Propionsäuregärung durch die folgende Gleichung dargestellt werden:

$$\underset{3\times 167}{\overset{\text{Milchsäure}}{3\,C_3H_6O_3}} = \underset{2\times 123}{\overset{\text{Propionsäure}}{2\,C_3H_6O_2}} + \underset{118}{\overset{\text{Essigsäure}}{C_2H_4O_2}} + \underset{103}{CO_2} + \underset{69}{H_2O} + 35\ \text{Kal.}$$

Per Gramm 0,32 Kal.

11. Die Buttersäuregärung. Die gewöhnliche Gleichung ist:

$$\text{a)}\ \underset{2\times 167}{\overset{\text{Milchsäure}}{2\,C_3H_6O_3}} = \underset{129}{\overset{\text{Buttersäure}}{C_4H_8O_2}} + \underset{2\times 103}{2\,CO_2} + 2\,H_2 + 1\ \text{Kal.}$$

---

1) Wie in den folgenden Beispielen sind hierzu die Anzahl Kalorien, welche durch die Spaltung des Zuckers in Milchsäure gewonnen werden, gezählt.

2) Berl. Berichte. 1899. p. 1915.

3) Da hierdurch die ganze entwickelte Wasserstoffmenge zu Wasser oxydiert wird, setzt man öfters Salpeter zu der zu verkäsenden Milch, um Käseblähungen zu vermeiden. Dieser gefürchtete Käsefehler rührt nämlich in der Regel von einer Bernsteinsäuregärung her.

Da alle Buttersäurebakterien indessen auch größere Mengen Ameisensäure bilden, muß man annehmen, daß ein Teil der Spaltung verläuft nach der Gleichung:

Milchsäure Buttersäure Ameisensäure

$$\text{b)}\ 2\,C_3H_6O_3 = C_4H_8O_2 + CH_2O_2 + CO_2 + H_2 + 0 \text{ Kal.}$$

2×167 129 102 103

Die Berechnungen zeigen, daß bei diesen Prozessen keine oder jedenfalls nur eine verschwindende Menge Energie freigemacht wird. Sie werden deshalb nicht stattfinden können, ohne daß eine andere Triebkraft tätig ist, und diese ist auch hier in den meisten Fällen die Reduktion der Milchsäure zu Propionsäure [1]). Nach meinen Untersuchungen [2]) wird bei der gewöhnlichen Buttersäuregärung für jedes Molekül Buttersäure ein bis zwei Moleküle Propionsäure gebildet. Rechnen wir nur mit einem Molekül Propionsäure, so wird die Buttersäuregärung am genauesten durch die folgende Gleichung ausgedrückt:

Milchsäure Buttersäure Propionsäure Ameisensäure

$$\text{c)}\ 6C_3H_6O_3 = 2C_4H_8O_2 + 2C_3H_6O_2 + CH_2O_2 + 3CO_2 + 2H_2O + H_2 + 51 \text{ Kal.}$$

6×167 2×129 2×123 102 3×103 2×69

Hierdurch werden per Gramm Traubenzucker 0,28 Kal. — also genau dieselbe Energiemenge wie bei der Alkoholgärung — gewonnen.

Es kommen indessen auch Buttersäuregärungen vor, bei welchen Essigsäure gebildet wird. Die am besten untersuchten sind die Wasserstoff- und Methangärung der Cellulose [3]). Die Bildung der Essigsäure kann in diesen Fällen durch Spaltung und Reduktion von Milchsäure auf die folgenden Weisen gedacht werden:

Milchsäure Buttersäure Essigsäure

$$\text{d)}\ 2\,C_3H_6O_3 + 2\,H_2 = C_4H_8O_2 + C_2H_4O_2 + 2\,H_2O + 51 \text{ Kal.}$$

2×167 129 118 2×69

Milchsäure Essigsäure

$$\text{e)}\ C_3H_6O_3 + 2\,H_2 = CH_4 + C_2H_4O_2 + H_2O + 41 \text{ Kal.}$$

167 21 118 69

Die Wärmetönung ist besonders beim letzten Reduktionsprozeß bedeutend. Wir können uns nun vorstellen, daß der ganze Verlauf der Wasserstoff- und der Methangärung nach den Gleichungen $f = 2 \times a + d = 53$ Kal. bezw. $g = a + e = 42$ Kal. vor sich geht:

Milchsäure Buttersäure Essigsäure

$$\text{f)}\ 6\,C_3H_6O_3 = 3\,C_4H_8O_2 + C_2H_4O_2 + 4\,CO_2 + 2\,H_2O + 2\,H_2 + 53 \text{ Kal.}$$

6×167 3×129 118 4×103 2×69

Per Gramm 0,29 Kal.

Milchsäure Buttersäure Essigsäure

$$\text{g)}\ 3\,C_3H_6O_3 = C_4H_8O_2 + C_2H_4O_2 + 2\,CO_2 + H_2O + CH_4 + 42 \text{ Kal.}$$

3×167 129 118 2×103 69 21

Per Gramm 0,35 Kal.

---

1) Nach Beijerinck soll die Reduktion betreffend Granulobacter butylicum sogar bis Propylalkohol gehen. Nach diesem Forscher (K Akademie d. Wetensch. Amsterdam. Bd. II. 1893. Teil 1.) wie nach Fitz (Berl. Berichte. Bd. IX. p. 1348) reduzieren verschiedene Buttersäurebakterien größere oder kleinere Mengen Buttersäure zu Butylalkohol. Zu den Reduktionsprozessen der Buttersäurebakterien gehört auch die Schwefelwasserstoffentwickelung, welche sie auf Kosten des Eiweißschwefels hervorrufen. Alle diese Prozesse sind exotherm.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVII. 1906. p. 233.

3) Die Hydrolyse der Cellulose zu Zucker kommt hier — als eine unechte Gärung — nicht in Betracht.

Ich habe diese Gleichungen gewählt, weil sie den wirklichen Verhältnissen annähernd zu entsprechen scheinen. Omelianski, dem wir unsere Kenntnis von den Gärungen der Cellulose verdanken, fand nämlich bei der Wasserstoffgärung folgende Mengen der Gärungsprodukte:

67 Proz. flüchtige Fettsäuren, 29 Proz. Kohlensäure, 0,4 Proz. Wasserstoff und 3,6 Proz. Rest[1]),

während die Gleichung f gibt:

60 Proz. flüchtige Fettsäuren, 32,7 Proz. Kohlensäure, 0,7 Proz. Wasserstoff und 6,6 Proz. Wasser.

Und was die Methangärung betrifft, fand Omelianski:

51 Proz. flüchtige Fettsäuren, 43 Proz. Kohlensäure, 7 Proz. Methan und — 1 Proz. Rest[2]),

während die Gleichung g gibt:

54,7 Proz. flüchtige Fettsäuren, 32,7 Proz. Kohlensäure, 6 Proz. Methan und 6,6 Proz. Wasser.

Omelianski findet freilich verhältnismäßig mehr Essigsäure, als die Gleichungen angeben, seine Beweise hierfür sind jedoch nicht überzeugend, solange es noch nicht festgestellt ist, ob nicht auch bei diesen Gärungen Propionsäure und Ameisensäure gebildet werden.

Mazé[3]) und Omelianski[4]) haben ferner gezeigt, daß Buttersäure (h) und Essigsäure (i) auch in Methangärung gehen können. Denken wir uns, daß diese sämtlichen Prozesse zu Ende laufen, dann liegt eine vollständige (anaërobe) Kohlenhydratspaltung vor:

	$3\,C_6H_{12}O_6 = 6\,C_3H_6O_3$	$+ 102$ Kal.	Milchsäuregärnng
g)	$6\,C_3H_6O_3 = 2\,C_4H_8O_2 + 2\,C_2H_4O_2 + 2\,H_2O + 4\,CO_2 + 2\,CH_4$	$+ 84$ „	Sumpfgas-gärungen
h)	$2\,H_2O + 2\,C_4H_8O_2 = 3\,CO_2 + 5\,CH_4$	$+ 18$ „	
i)	$2\,C_2H_4O_2 = 2\,CO_2 + 2\,CH_4$	$+ 12$ „	
	$3\,C_6H_{12}O_6 = 9\,CO_2 + 9\,CH_4$	$+ 216$ Kal.	
	$C_6H_{12}O_6 = 3\,CO_2 + 3\,CH_4$	$+ 72$ „	Per Gramm 0,40 Kal.
	300 … 3×103 … 3×21		

Die größtmögliche Energiemenge, welche durch die bakterielle Kohlenhydratspaltung — ohne gleichzeitige Oxydationsprozesse — freigemacht werden kann, entspricht also 0,40 Kal. per Gramm (Traubenzucker). Hiervon werden gewonnen:

Bei der Milchsäuregärung	48 Proz.
„ „ Bernsteinsäuregärung (ohne Propionsäurebildung)	58 „
„ „ Alkoholgärung oder bei der Buttersäuregärung	70 „
„ „ Propionsäuregärung	80 „
„ den Sumpfgasgärungen	88–100 „

Das vorliegende Studium zeigt, daß die wenigsten Gärungen reine Oxydations- oder reine Spaltungsprozesse sind. Bei den Oxydationen mit gebundenem Sauerstoff wird das Oxydationsmittel gleichzeitig reduziert, bei den Spaltungen der fakultativ anaëroben Bakterien findet öfters eine Oxydation und bisweilen auch eine Reduktion der Spaltungsprodukte statt, und was die obligat anaëroben Bakterien betrifft, sind

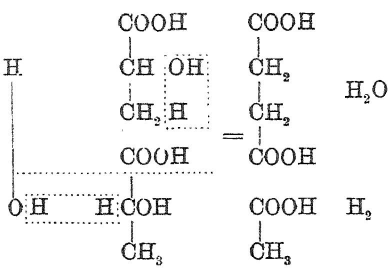
1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 354.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 361. Da der Rest negativ ist, ist offenbar zu viel Kohlensäure gefunden worden.

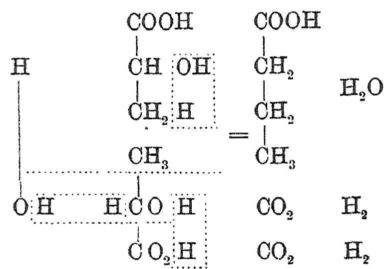
3) Zitiert nach Omelianski.

4) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1906. p. 673.

es sogar die die Spaltungen begleitenden Reduktionen, welche ihnen die Hauptmenge der Energie liefern. Da bei den bakteriellen Reduktionsprozessen der reduzierende Wasserstoff stets den gärenden Substanzen entstammt, so haben wir hier nur mit einer Wasserstoffumlagerung zu tun, und diese Prozesse entsprechen somit nicht den Oxydationen, welche mittels des Luftsauerstoffes, sondern denjenigen, die mittels gebundenen Sauerstoffes vor sich gehen. Nur die Oxydation mittels freien Sauerstoffes von einfachen Verbindungen (wie z. B. die Essigsäuregärung) sind reine Oxydationsgärungen, und von reinen Spaltungsgärungen kennen wir nur die Milchsäure- und die Alkoholgärung. Die erstere ist indessen (und damit auch die letztere) wegen der eigentümlichen Umlagerung von Sauerstoff- und Wasserstoffatomen eine teilweise Synthese. Unzweifelhafte Synthesen sind die Bildung von Bernsteinsäure und Buttersäure aus Milchsäure. Der einzige Unterschied zwischen diesen analogen Prozessen, wobei man sich die Anlagerung und Abspaltung von je einem Molekül Wasser vorstellen muß, besteht darin, daß es verschiedene Enden der Milchsäuremoleküle sind, welche sich vereinigen:



Die Bernsteinsäuregärung (9 a)



Die Buttersäuregärung (11 a)

Es drängt sich die Frage auf, aus welchem Grunde der Abbau der Kohlenhydrate diesen eigentümlichen Zickzackweg mit dazwischenliegenden Aufbauprozessen geht. Wenn auch die Energie, die zu den Synthesen gebraucht wird, den Bakterien später zugute kommen kann, so bedeutet doch die Wasserstoffentwickelung einen reinen Energieverlust. Der freigemachte Wasserstoff wird freilich den obligat anaëroben Buttersäurebakterien dadurch nützlich sein können, daß er Sauerstoff verdrängt und hochoxydierte Verbindungen reduziert; welchen Nutzen aber die fakultativ anaëroben Bernsteinsäurebakterien von ihm haben können, ist schwieriger zu verstehen. Da indessen die Oxydation der Bernsteinsäure (und eigentlich auch die der Buttersäure) zu Aepfelsäure ein verhältnismäßig einfacher biologischer Prozeß zu sein scheint, und da aus letzterer wieder Asparagin entstehen kann, so wird der Gedanke unwillkürlich auf die Eiweißsynthese hingeleitet, bei welcher das Asparagin eine hervortretende Rolle spielt. Es ist sogar wahrscheinlich, daß der Grund, warum die Pflanzen Nitrate als Stickstoffquelle vorziehen, der ist, daß der Nitratsauerstoff zur Oxydation der Bernsteinsäure (oder Buttersäure) und des bei deren Bildung entwickelten Wasserstoffes dienen soll; hierdurch wird die Salpetersäure selber zu Ammoniak reduziert, und die Asparaginsynthese ist mit großem Energiegewinn vollbracht. Mit der Eiweißsynthese vor Augen verstehen wir überhaupt leichter, warum beim Abbau der Kohlenhydrate so viele verschiedene Säuren gebildet werden; denn diese sollen nötigenfalls wieder zur Bildung der Aminosäuren, aus welchen das Eiweißmolekül besteht, dienen. Da die Tiere nicht imstande sind, die Kohlenhydrate in so vielen verschiedenen

Weisen wie die Bakterien und Pflanzen umzubilden, so spielen hier bisweilen die Kohlenhydrate selber die aminbildende Rolle. So ist bekanntlich Glykosamin ein Bestandteil von Chondro- und Ovomukoid, und vor allem kommt es in Form von Mucin und Chitin in reichlichen Mengen bei den niederen Tieren vor. Da diese Stoffe auch in den eiweißbildenden Bakterien nachgewiesen sind, ist es wahrscheinlich, daß das Glykosamin in ebenso hohem Grade wie die Aminosäuren ein natürliches Uebergangsglied zwischen Kohlenhydraten und Eiweißstoffen bildet. Da das Chitin zum Teil als eine Verbindung von Glykosamin mit Essigsäure aufgefaßt werden kann, ist es kein Wunder, daß gerade eine Essigsäurebakterie, B. xylium[1]), besonders große Chitinmengen erzeugt.

Nicht nur mit Rücksicht auf die Eiweißsynthese, sondern noch mehr mit Rücksicht auf die Fettsynthese entstehen beim Kohlenhydratabbau Säuren mit einer höheren Anzahl Kohlenstoffatome. Um die echten Gärungen aus dem Grunde zu verstehen, müssen wir bedenken, daß, wenn sie auch in der Regel wegen des Energiegewinns ausgeführt werden, so können sie zeitweise auch — ebenso wie die unechten Gärungen — dazu dienen, die Nahrung in die Elemente überzuführen, aus welchen die Organismen ihre Zellbestandteile zusammensetzen. Außerdem hat die Enzymforschung gelehrt, daß Abbau und Aufbau zum Teil von denselben Faktoren besorgt werden und es wesentlich von der Konzentration, in welcher die Stoffe vorkommen, abhängt, ob der Prozeß nach der einen oder anderen Richtung geht. Sind die Zellen bereits mit Energie überladen, so ist es natürlich, daß die Enzyme so weit als möglich die Energiequellen in Reservenahrung umbilden, statt sie unnütz zu zerstören. Es ist interessant, zu beachten, daß das Glyzerin, $C_3H_8O_3$, welches die verschiedenen Säuren der Fettstoffe zusammenkettet, als ein Reduktionsprodukt der Milchsäure, $C_3H_6O_3$, welche ja das Uebergangsglied bei den mannigfachen Umbildungen der Kohlenhydrate ist, aufgefaßt werden kann[2]). Uebrigens liegt die Fettbildung aus den Kohlenhydraten, der gewaltigste aller bekannten physiologischen Reduktionsprozesse, noch völlig im Dunkeln.

12. Die schleimige Gärung[3]). Zur synthetischen Tätigkeit der Bakterien gehört die Bildung der Gummiarten, aus welchen die Zellwand in der Hauptsache besteht. Durch reichliche Gummiproduktion kann die Zellwand (besonders deren äußere Schicht, welche den Intracellularsubstanzen der Pflanzen entspricht) sehr dick werden, und wir haben dann eine Kapselbildung, die noch weiter gehen und verschiedene Bakterienketten zu größeren Klumpen zusammenkitten kann, oder die Kapseln können verschleimen, wodurch die ganze Nährflüssigkeit schleimig und fadenziehend wird. Die letzteren Erscheinungen können für die betreffenden Bakterienarten charakteristisch sein und haben dann wohl — weil diese Organismen keine Endosporen bilden — zur Absicht, sie gegen Austrocknung zu schützen. Sie können indessen auch Degenerationserscheinungen sein, die ebenso wie die Fettdegeneration bei den Tieren entstehen, wenn das Energieerzeugungsvermögen (die Gärkraft bezw. die

1) Emmerling, Berl. Berichte. Bd. XXXII. 1899. p. 541.

2) Daß diese Auffassung richtiger ist, als man eigentlich nach den rationellen Formeln der Milchsäure und des Glyzerins glauben möchte, folgt daraus, daß das letztere bei den meisten Gärungen Aethylalkohol liefert.

3) Wir wollen uns hier nur mit der schleimigen Gärung der Kohlenhydrate und nicht mit derjenigen der Proteinstoffe befassen.

Oxydationskraft) eine Abschwächung erleidet. In diesem Falle gewinnen die Aufbauprozesse die Oberhand über die Abbauprozesse. Die meisten Milchsäurebakterien (die echten sowohl wie die Aërogenes-Formen) können durch Ueberernährung in dieser Weise schleimbildend, indem sie gleichzeitig weit schwächere Säureproduzenten werden[1].

Bisweilen wird bei der schleimigen Gärung Mannit gebildet, was jedoch nur dann geschehen kann, wenn die Nährflüssigkeit Mannose, Lävulose oder Anhydride dieser Zuckerarten enthält. Das Zustandekommen der Mannitgärung des Rohrzuckers können wir uns dadurch denken, daß die tätigen Milchsäurebakterien — wegen ihrer Degeneration — nur die Dextrose zu spalten vermögen, während sie sich damit begnügen müssen, die schwerer vergärbare Lävulose zu reduzieren.

Da wir unter Gärung, sie mag echt oder unecht sein, mikrobielle Prozesse, bei welchen der Abbau den Aufbau überwiegt, verstehen, so ist es zweifelhaft, ob die schleimige Gärung ihren Namen verdient.

13. Die Gärungen der Aminosäuren. Im vorhergehenden haben wir versucht, uns zu vergegenwärtigen, wie die Eiweißstoffe aus den Kohlenhydraten gebildet werden können; der Verlauf muß natürlicherweise der entgegengesetzte sein, wenn Kohlenhydrate aus Eiweißstoffen entstehen sollen. Die Fäulnisbakterien zerlegen daher — besonders wenn sie keine Kohlenhydrate zur Verfügung haben — die Aminosäuren in Säuren und Ammoniak. Durch Reduktion entstehen die entsprechenden Säuren und durch Hydrolyse die entsprechenden Oxysäuren. Aus diesen letzteren werden wieder durch Kohlensäureabspaltung höhere Alkohole gebildet, genau in der gleichen Weise, wie der Aethylalkohol aus der Oxysäure „Milchsäure" entsteht. Demgemäß werden nach F. Ehrlich[2]) die Hauptbestandteile des Fuselöls, Amyl- und Isoamylalkohol, aus Isoleucin bezw. Leucin gebildet. Es kann auch ohne vorhergehende Ammoniakabspaltung eine Kohlensäureabspaltung stattfinden. Hierdurch entstehen die sogenannten Ptomaïne und andere eigentümliche sekundäre Eiweißzersetzungsprodukte. So entsteht z. B. aus:

Diaminovaleriansäure (Ornihin)	Tetratramethylendiamin (Putrescin)
Diaminocapronsäure (Lysin)	Pentamethylendiamin (Cadaverin)
Phenylaminopropionsäure	Phenyläthylamin (Collidin)
Oxyphenylaminopropionsäure (Tyrosin)	Oxyphenyläthylamin

Wenn Oxydationen sich den erwähnten Prozessen zugesellen, so wird die Zahl der Gärungsprodukte noch weit größer. Ich werde hier nur daran erinnern, daß durch Reduktion, Oxydation und Kohlensäureabspaltung entsteht: aus Tyrosin Kresol und aus Tryptophan Skatol, und durch weitere Oxydation Phenol bezw. Indol. Wegen der Rolle, welche die Indolreaktion in der Bakteriologie spielt, muß hervorgehoben werden, daß das Indol ein Oxydationsprodukt ist und daher nicht von obligat anaëroben Bakterien gebildet werden kann. Ein indolproduzierender Organismus muß sowohl zur Reduktion und Oxydation als auch zur Kohlensäureabspaltung befähigt sein. Alle diese Eigenschaften besitzen die fakultativ anaëroben Bernsteinsäurebakterien, und in der

1) Es sind besonders die Reinkulturen der Milchsäurebakterien, die zur Degeneration neigen, und es ist ja — unter der Voraussetzung, daß die Milchsäure zum Teil ein Kampfmittel ist — leicht verständlich, daß die Milchsäurebildung gerade dort zurückgeht, wo durch viele Generationen keine Konkurrenz mit anderen Bakterien stattgefunden hat.

2) Zeitschrift der Zuckerindustrie. Bd. LV. 1905. p. 539.

Tat gehören die wichtigsten Indolproduzenten zu dieser Gruppe. Ob die Reduktasen, Oxydasen und kohlensäureabspaltenden Enzyme, welche auf die Kohlenhydrate einwirken, mit denjenigen identisch sind, welche die Aminosäuren zerlegen, ist noch nicht untersucht. Es ist jedoch Grund vorhanden, dies anzunehmen; denn es sind z. B. gerade die Hefen, welche aus Zucker viel Aethylalkohol bilden, die aus Aminosäuren größere Mengen höherer Alkohole erzeugen.

Wir wollen endlich einen verwandten Prozeß besonders besprechen, nämlich:

14. Die ammoniakalische Gärung oder die Umwandlung des Harnstoffes in kohlensaures Ammoniak:

$$\underset{77}{CON_2H_4} + \underset{2\times 69}{2\,H_2O} = \underset{222}{(NH_4)_2CO_3} + 7 \text{ Kal.} \quad \text{Per Gramm } 0{,}07 \text{ Kal.}$$

Diese Gärung ist eigentlich keine echte, sondern nur eine Hydrolyse, weshalb auch die Wärmetönung nur gering ist. Nichtsdestoweniger müssen wir annehmen, daß die typischen Urobakterien, welche die Kohlenhydrade nicht spalten können, durch dieselbe die Hauptmenge ihrer Energie gewinnen.

In der folgenden Zusammenstellung der bakteriellen Gärungen sind dieselben nach der Wärmetönung geordnet:

Die Oxydation des Wasserstoffes	3,83	Kal.
„ Oxydation des Methans	2,75	„
„ Oxydation des Schwefelwasserstoffes zu Schwefelsäure	2,05	„
„ physiologische Kohlenhydratverbrennung	1,97	„
„ Oxydation des Kohlenoxyds	1,68	„
„ Essigsäuregärung	1,47	„
„ Oxydation des Schwefelwasserstoffes zu Schwefel	1,24	„
„ Denitrifikation	0,8—1	„
„ Nitritation	0,76	„
„ vollständige Kohlenhydratspaltung	0,40	„
„ Methangärung	0,35	„
„ Propionsäuregärung	0,32	„
„ gewöhnliche Buttersäuregärung	0,28	„
„ Bernsteinsäuregärung	0,23	„
„ Nitratation	0,22	„
„ Milchsäuregärung	0,19	„
„ ammoniakalische Gärung	0,07	„
„ Desulfuration	0,06	„

Wie man sieht, sind die Gärungen, durch welche am meisten Energie gewonnen wird, sämtlich Oxydationsprozesse. Nach diesen kommen die Reduktionsprozesse (die Propionsäuregärung und die verschiedenen Buttersäuregärungen) und zuletzt die reinen Spaltungsprozesse (die Bernstein- und Milchsäuregärung). Nächst der Oxydation des Wasserstoffes, des Methans und des Schwefelwasserstoffes ist die vollständige Kohlenhydratverbrennung, wie sie vorzugsweise bei den Tieren stattfindet, der stärkste energieliefernde Prozeß. Es ist einleuchtend, daß je größer die synthetische Tätigkeit der Bakterien ist, desto mehr Energie sie bedürfen. Zu den ersten in der Uebersicht angeführten Gärungen gehören daher die der autotrophen Bakterien und zu den letzten diejenigen, welche von Bakterien ausgeführt werden, die sich nur, wenn sie organische Stickstoffquellen zur Verfügung haben, entwickeln. Eine Aus-

nahme bilden jedoch die Nitratbakterien. Dieselben wachsen aber auch sehr langsam und müssen große Mengen Nitrit oxydieren für jeden Teil organischer Substanz, den sie erzeugen.

Nach dieser kleinen Orientierung in der Biologie der Bakterien sind wir für unsere eigentliche Aufgabe ausgerüstet.

Daß die ersten Bakterien auf unserer Erde autotroph gewesen sein müssen, steht fest; schwieriger ist es dagegen, zu entscheiden, welche der autotrophen Bakterien die ältesten sind; denn die Energiequellen H, CH_4, SH_2, CO und NH_3, die vulkanische Produkte sind, waren im Morgen der Zeiten sicher alle in reichlichen Mengen vertreten. Einen Leitfaden haben wir indessen, wenn wir von der sehr wahrscheinlichen Voraussetzung ausgehen, daß, je leichter eine Synthese vor sich geht, desto früher sie auch stattgefunden haben wird[1]). Da Kaserer[2]) gezeigt hat, daß einzelne autotrophe Bakterien in anorganischen Nährflüssigkeiten leichter wachsen, wenn diesen eine Spur Formaldehyd zugesetzt wird, so muß man annehmen, daß letzterer Stoff bei der Kohlenstoffassimilation dieser Bakterien wie bei den Pflanzen ein Zwischenprodukt ist. In den nachfolgenden Gleichungen sind angegeben, wie viele Kalorien die wichtigsten autotrophen Bakterien zur Bildung eines Moleküls Formaldehyd, CH_2O, gewinnen oder verbrauchen, wenn sie hierfür die kleinstmögliche Menge der zur Verfügung stehenden Energiequellen benutzen[3]).

Methanomonas:	$\underset{21}{CH_4} + O_2 = \underset{40}{CH_2O} + \underset{69}{H_2O}$	+ 88 Kal.
Nitrosomonas:	$\underset{222}{(NH_4)_2CO_3} + 2\,O_2 = \underset{40}{CH_2O} + \underset{2\times 30}{2\,HNO_2} + \underset{2\times 69}{2\,H_2O}$	+ 16 „
Carboxydomonas:	$\underset{2\times 29}{2\,CO} + \underset{69}{H_2O} = \underset{40}{CH_2O} + \underset{103}{CO_2}$	+ 16 „
Hydrogenomonas:	$\underset{103}{CO_2} + 2\,H_2 = \underset{40}{CH_2O} + \underset{69}{H_2O}$	+ 6 „
Sulfomonas thioparus:	$\underset{103}{CO_2} + \underset{2\times 7}{2\,H_2S} = \underset{40}{CH_2O} + \underset{69}{H_2O} + S_2$	− 8 „
Nitromonas:	$\underset{103}{CO_2} + \underset{2\times 89}{2\,KNO_2} + \underset{69}{H_2O} = \underset{40}{CH_2O} + \underset{2\times 111}{2\,KNO_3}$	− 88 „
Grüne Pflanzen:	$\underset{103}{CO_2} + \underset{69}{H_2O} = \underset{40}{CH_2O} + O_2$	− 132 „

Wie man sieht, ist die Kohlenstoffassimilation bei den vier ersten Organismen exotherm, während sie bei den zwei letzten — ebensowie bei den Pflanzen — endotherm ist. Bei allen autotrophen Bakterien besteht

---

1) Wenn ich hier auf eine Hypothese baue, so muß ich gleich beifügen, daß es für die Fortsetzung des Systems keine Rolle spielt, ob diese Hypothese richtig ist oder nicht. Der einzige Grund, warum ich die verschiedenen autotrophen Bakterien nicht als isolierte Formen aufstelle, ist der, daß eine vorläufige Ordnung nach einem natürlichen Prinzip meiner Ansicht nach besser als gar keine Ordnung ist.

2) Zeitschrift f. d. landwirtsch. Versuchswesen in Oesterreich. Bd. X. 1907. p. 37. Ich nehme jedoch Abstand von der merkwürdigen Idee Kaserers, daß die autotrophen Bakterien vornehmlich ihre eigenen Aufbauprodukte als Energiequellen ausnützen.

3) Addieren wir überall 10 Kal. zur rechten Seite der Gleichungen, so erhalten wir die Energiemenge, welche zur Bildung von $^1/_6$ Molekül Traubenzucker (die Bildungswärme des Traubenzuckers beträgt 300 Kalorien) gewonnen bezw. verbraucht wird.

die Kohlenstoffassimilation in Oxydations- oder Reduktionsprozessen, die am besten im Dunkeln vor sich gehen; bei den Pflanzen dagegen wird bei der Kohlenstoffassimilation elementarer Sauerstoff entwickelt, was mit einem solchen Kalorienverlust verbunden ist, daß der Prozeß nur mittels der Energie des Sonnenlichtes zustandekommen kann. Aus den Berechnungen geht hervor, daß keine von den vorliegenden Substanzen für die Kohlenstoffassimilation so geeignet ist, wie der Kohlenwasserstoff; Mathanomonas ist daher ohne Vergleich die autotrophe Bakterie, die am leichtesten ihre Zellbestandteile aufbauen kann, und wir müssen ihn deshalb auch als den Stammvater aller anderen Bakterien rechnen. Da aus Kohlenwasserstoff durch Substitution oder andere Prozesse alle möglichen organischen Verbindungen gebildet werden können, ist es außerordentlich ansprechend, gerade in Methanomonas den Ursprung alles organischen Lebens zu suchen. Carboxydomonas und Nitrosomonas werden ungefähr gleichzeitig entstanden sein, weil sie den Kohlenstoff mit gleich großem Energiegewinn assimilieren, und wir können deshalb annehmen, daß sich Methanomonas einerseits zu den anderen Bakterien, welche Kohlenstoffverbindungen oxydieren, und andererseits zu den Bakterien, welche anorganische Stickstoffverbindungen oxydieren, entwickelt hat. Später entstandene Zweige werden von den Bakterien, welche Wasserstoff und Schwefelwasserstoff oxydieren, gebildet. Da Carboxydomonas nach den Untersuchungen von Kaserer auch Wasserstoff zu oxydieren vermag, wenn er im Verein mit anderen Bakterien wächst, so muß er mit dem Hydrogenomonas nahe verwandt sein. Nach der Schwierigkeit zu urteilen, mit welcher Nitromonas Kohlenstoff assimiliert, kann dieser Organismus erst lange nach Nitrosomonas entstanden sein. Daß es sich in Wirklichkeit so verhält, ist einleuchtend; denn bis Nitrosomonas den größten Teil des auf der Erdoberfläche vorhandenen Ammoniaks zu salpetriger Säure oxydiert hatte, konnte Nitromonas sich nicht entwickeln. Die stetigen Niederschläge (die Kondensation der ungeheueren Mengen Wasserdämpfe, die sich damals in der Luft befanden), welche in dieser Periode stattfanden, trugen natürlicherweise dazu bei, die Ammoniakmenge schneller unter die für Nitromonas schädliche Grenze zu bringen. Mit der Bildung von Nitriten und Nitraten wurden die Entwickelungsbedingungen der denitrifizierenden Bakterien geschaffen, Organismen, die, wie erwähnt, ebenso wie die eigentlichen Schwefelbakterien der Gattung Sulfomonas entspringen. Um den Faden nicht zu verlieren, werde ich schon jetzt den Anfang meines Systems skizzieren:

```
     Hydrogenomonas }
                    } Methanomonas — Nitrosomonas — Nitromonas
  — Carboxydomonas  }      |
                           |
                           |
                      Sulfomonas — Thiomonas — Rhodomonas —
                           |            |
                 — Denitromonas     Beggiatoa —
                           |            |
                     Denitrobacterium
                           |
```

Bei der Aufstellung dieses Systems haben wir bisher die morphologischen Eigenschaften der Bakterien nicht berücksichtigt, weil diese, wie ich eingangs betonte, erst in zweiter Linie in Betracht kommen. Eine Einteilung lediglich auf Grund einiger mehr oder weniger zufällig gewählten

äußerlichen Aehnlichkeiten gehört nicht in die wahre Naturwissenschaft, denn hier muß die Natur selber den Weg zeigen. Und diese zeigt denn auch, wie es zu erwarten war, daß die ersten Bakterien die einfach möglichste Form besaßen; sie waren nämlich alle Kurzstäbchen und — insofern es gelungen ist, ihre Geißeln zu beobachten — monotrich. Sie waren nicht sporenbildend oder verzweigt. Die Fähigkeit zur Bildung von Endosporen oder Verzweigungen gehört daher höheren Entwickelungsstufen an.

Da sich die lophotrichen Bakterien eigentlich nur dadurch von den monotrichen unterscheiden, daß sie mit polaren Cilien reichlicher ausgestattet sind, so existieren keine scharfen Grenzen zwischen diesen zwei Formen, sondern es gehören zu derselben Familie — ja möglicherweise auch zu derselben Gattung [1]) — sowohl monotriche als lophotriche Arten. Die peritrichen Bakterien bilden dagegen, wie wir später sehen werden, wegen ihrer ausgesprochenen Fähigkeit zur Spaltung von Kohlenhydraten oder Aminosäuren ein abgeschlossenes Ganzes. Ich habe es deshalb natürlich gefunden, das ganze Bakterienreich in die zwei Ordnungen **Cephalotrichinae** [2]) und **Peritrichinae** einzuteilen. Wir werden uns mit der ersten Ordnung fertig machen, bevor wir zur anderen übergehen.

Von Bakterien, die anorganische Stickstoffverbindungen oxydieren können, kennen wir vorläufig keine anderen, als die bereits erwähnten [3]). Dieselben nehmen eine Sonderstellung ein, indem alle anderen Organismen Nitrate reduzieren. Die Reduktion kann stattfinden, um Energie zu erzeugen, wie dies mit den denitrifizierenden Bakterien der Fall ist; sie wird aber häufiger vorgenommen, nur um den Stickstoff in eine für die Eiweißsynthese geeignete Form, d. h. in Aminosäuren überzuführen [4]).

Ganz anders formenreich ist die Gruppe der Bakterien, welche Kohlenstoffverbindungen (ohne Ausscheidung von nennenswerten Mengen nicht oxydierter Spaltungsprodukte) oxydiert. Vom Carboxydomonas schreiten wir allmählich zu den Essigsäurebakterien und zu den ebenfalls stark oxydierenden Stickstoffsammlern [5]): Azotobacter und Rhizobium über. Da diese letzteren mit polaren Geißeln versehen sind, wollen wir sie Azotomonas und Rhizomonas nennen. Nach meinen Untersuchungen kann der erstere — ebenso wie die Schnellessigbakterien — sich mit Aethylalkohol als einziger Kohlenstoffquelle begnügen, während der letztere (R. Beijerinckii sowohl als R. radicicola) höhere Alkohole oder Kohlenhydrate verlangt. Beide redu-

1) So gehören z. B. das monotriche B. fluorescens non liquefaciens und das lophotriche B. syncyaneum unzweifelhaft zu derselben Gattung.

2) Das griechische Wort Kephalos bedeutet nicht nur Kopf, sondern auch mehr allgemein das äußerste Ende einer Sache. Cephalotrichinae heißt daher die endbehaarten (Bakterien).

3) Weder die Essigsäurebakterien noch die aëroben Stizkstoffsammler vermögen Ammoniak zu Nitrit oder Nitrat zu oxydieren.

4) Um die Aminogruppe $\overset{|}{\underset{|}{C}}HNH_2$ aus $\overset{|}{\underset{|}{C}}H_2$ oder $\overset{|}{\underset{|}{C}}HOH$ zu bilden, ist NH bezw. NH_3 erforderlich.

5) Besonders nach den Untersuchungen von Löhnis (siehe z. B. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIX. 1907. p. 87) ist es festgestellt, daß die Fähigkeit, Stickstoff sammeln zu können, bei den Mikroorganismen so verbreitet ist, daß man fast annehmen muß, daß jede Bakterie, die sich überhaupt mit anorganischen Stickstoffquellen begnügen kann, auch den Luftstickstoff in höherem oder geringerem Grade auszunützen vermag. Diese Fähigkeit hat daher nur systematische Bedeutung, wenn die betreffenden Bakterien auch andere Eigenschaften gemein haben.

zieren Nitrat zu Nitrit und zum Teil auch weiter zu Ammoniak [1]. Es ist daher wahrscheinlich, daß sie den Nitratstickstoff in der Weise ausnutzen, daß sie zuerst Ammoniumnitrit bilden, welches sich bekanntlich leicht in elementaren Stickstoff und Wasser spalten läßt. Diese Spaltung geht jedoch nur vor sich, wenn Eiweiß gebildet werden soll, denn ein Stickstoffverlust findet bei diesen Prozessen nicht statt, was die eingehenden Untersuchungen von Stoklasa über Azotomonas zeigen [2]. Wir wollen sämtliche hier genannte obligat aërobe Bakterien mit Ausnahme von Rhizomonas zur Familie Oxydobacteriaceae sammeln.

Ebenso wie die Essigsäurebakterien, können auch Azotomonas und Rhizomonas mit sehr verschiedener Form auftreten. Das größte Interesse bieten die oft stark verzweigten Zellen der Knöllchenbakterien, denn hierdurch werden diese Organismen an die Actinomyceten (Streptothricheen), die ebenfalls Erd- und Wurzelbakterien sind, geknüpft. Durch die Wurzelpilze der Koniferen, Erlen und anderen Pflanzen geht die Entwickelung weiter zu den Eumyceten, und es ist eine Frage, ob es nicht korrekter wäre, die Actinomyceten hierzu zu rechnen, statt zu den Bakterien, die sonst gerade dadurch charakterisiert sind, daß sie normalerweise keine echten Verzweigungen besitzen. Die Verwandtschaft bekundet sich nicht bloß durch die Verzweigungen, sondern auch durch die Bildung von Oidien. Wenn diese an besonderen Luftfäden in basipetaler Reihenfolge stattfindet, so entstehen echte Konidien; geht sie dagegen überall und in basifugaler Reihenfolge vor sich, so entstehen Hefezellen. Unter den sogenannten Fungi imperfecti sind natürlicherweise die ältesten echten Mycomyceten zu finden; denn bei diesen letzteren muß — ebenso wie bei den Bakterien — die Fähigkeit, Endosporen bilden zu können, eine höhere Entwickelung bezeichnen. Nehmen wir speziell an, daß die sporenfreien Hefepilze die Stammformen der sporenbildenden sind, so muß die Entwickelung von den Mycodermen durch die Torulaceen zu den Saccharomyceten, d. h. von Sauerstoffatmung, was bei den Eumyceten das Normale ist, zu Spaltungsatmung und von Formen mit nur wenigen Enzymen zu solchen, die in dieser Hinsicht reich ausgestattet sind, gegangen sein. Wir wollen nicht näher auf diesen Gegenstand eingehen, der außerhalb des Rahmens unserer Aufgabe liegt.

An die Familie Actinomycetes schließen sich nach Lehmann und Neumann die Gattungen Corynebacterium und Mycobacterium, welche ich lieber Corynemonas und Mycomonas nenne. Wegen ihres Sauerstoffbedürfnisses passen sie auch gut an diese Stelle des Systems hinein; da sie indessen nie ein stark entwickeltes Mycelium bilden, muß man ihren Ursprung in den ältesten Mycomyceten, d. h. in der Gattung Rhizomonas suchen. Hier ist aber auch — jedenfalls was Mycomonas betrifft — die Anknüpfung sehr natürlich, denn mit dem Nachweis von Hiltner [3], daß das Verhältnis zwischen den Knöllchenbakterien und den Leguminosen ein richtiges Kampfverhältnis ist, wird die Aehnlichkeit der Knöllchen dieser Pflanzen mit den Tuberkeln

---

1) Von den Knöllchenbakterien zeigte jedoch nur der schwer gelatinewüchsige (aus Lupinen isolierte) R. Beijerinckii eine deutliche Nitratreduktion, aber nicht der in flüssigen Kulturen weit häufiger verzweigte und deshalb wahrscheinlich später entstandene (aus Rotklee isolierte) R. radicicola.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XXI. 1908. p. 484.

3) Arbeiten aus der biologischen Abteilung des K. Gesundheitsamtes. Bd. I. 1900. p. 177.

der Tiere größer, als man sie in der neueren Zeit zu betrachten geneigt ist.

Der soeben untersuchte Ast des Bakteriensystems erhält also folgendes Aussehen:

|

Azotomonas — Carboxydomonas — Acetimonas

|

Mycomonas — Rhizomonas — Corynemonas

|

Actinomyces

|

Mit den Azotomonas-Arten, die vorzugsweise auf oder zusammen mit den Algen leben, sind wir wenigstens zur Entstehung der Wasserpflanzen und mit den Knöllchenbakterien und den Actinomyceten zur Entstehung der Landpflanzen in der Zeit vorgerückt. Gehen wir noch weiter bis zu den Mycomyceten und speziell zu den Hefepilzen, so setzt eine reichliche Entwickelung derselben sogar die Existenz von süßen und saftigen Früchten voraus.

Wir wollen wieder zu den Zeiten, als es noch finster auf der Erde war, zurückkehren, und uns an die farblosen Schwefelbakterien wenden. Von diesen hat Warming[1]) und später Hinze[2]) ellipsoidische und runde Formen, Jegunow[3]) einige Stäbchen und Omelianski[4]) ein Spirillum beschrieben. Da die Gattung Sulfomonas aus Stäbchen besteht, so müssen die stäbchenförmigen (bezw. die ovalen), also die der Gattung Thiomonas zugehörenden Thiobakterien, die ältesten sein, und aus diesen hat sich einerseits die Gattung Thiococcus und andererseits die Gattung Thiospirillum entwickelt. Die sehr hellroten Schwefelbakterien (wie z. B. Chromatium vinosa) bilden den natürlichen Uebergang von Thiomonas zu Rhodomonas, und hiermit sind wir mitten in der großen Familie der roten Schwefelbakterien, die an Formenreichtum alle anderen jetzt lebenden Bakterienfamilien übertrifft. Hier kommen außer den gewöhnlichen Monasformen auch solche (Rhabdomonas und Rhododictyon) mit zugespitzten Enden, und außer den Kokken, die sich nach einer, zwei oder drei Richtungen teilen, auch die schon erwähnte Zwischenform Lamprocystis vor. Da ich die Vorsilbe Thio für die farblosen Schwefelbakterien reserviert habe, bin ich genötigt, dieselbe in Rhodo zu ändern, überall, wo sie in den Namen der roten Schwefelbakterien vorkommt. Wenn ich noch beifüge, daß die Kokken und Spirillen auch hier von den Monasformen und die unbeweglichen Arten von den beweglichen abgeleitet werden, so kann die später folgende Stammtafel der Rhodobakterien, die sonst auf dem System von Winogradsky[5]) aufgebaut ist, keine Schwierigkeiten bieten.

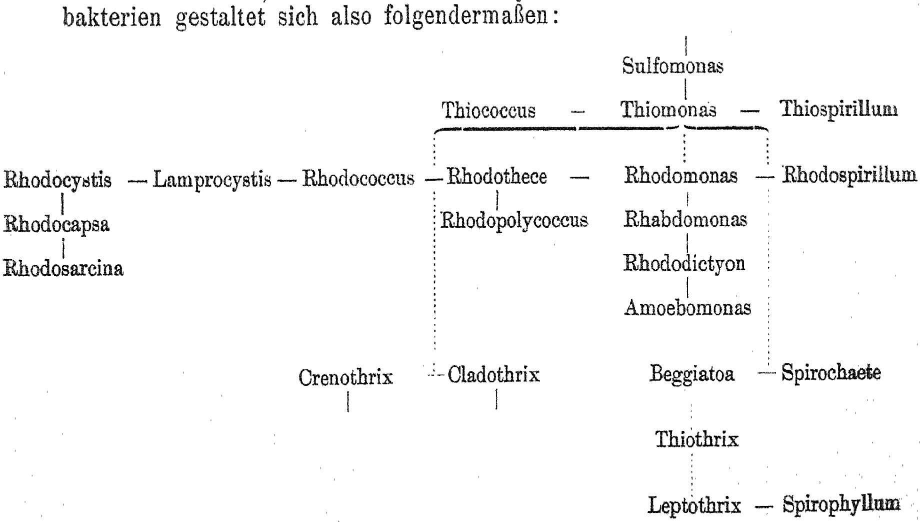
Von den Uebergangsformen, die ohne Zweifel zwischen den schwimmenden Thiobakterien und den kriechenden Beggiatoa-Arten existiert haben, kennen wir nichts. Als die Schraubenform der Beggiatoa können wir Spirochaete auffassen. Während die im Sumpfwasser

1) Om nogle ved Danmarks Kyster levende Bakterier. Köbenhavn 1876.
2) Berichte d. Deutschen botanischen Gesellschaft. Bd. XXI. 1903. p. 309.
3) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. II. 1896. p. 11.
4) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. p. 769.
5) Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Bakterien. 1888.

im Verein mit den Schwefelbakterien lebenden Spirochäten wahrscheinlich zu den ältesten Arten gehören, so ist S. pallida ihr jüngster und verfeinertster Repräsentant. Da die abgebrochenen Fadenspitzen von Thiothrix auch kriechend sind, so müssen wir annehmen, daß diese Gattung ebenfalls von Beggiatoa abstammt.

Da Leptothrix (Chlamydothrix) eine gewisse äußere Aehnlichkeit mit Thiothrix zeigt, ist er früher als die schwefelfreie (unbewegliche) Parallelform betrachtet worden. Die neueren Untersuchungen von Ellis[1]) zeigen indessen, daß die Leptothrix-Arten ihre Konidien überall auf der ganzen Oberfläche bilden. Die Schraubenformen des Leptothrix sind Gallionella und Spirophyllum. Jedoch kann den mehr oder weniger zufälligen Biegungen und Flechten der Gallionella-Fäden nicht dieselbe systematische Bedeutung wie den regelmäßigen Windungen der starren Spirillen zugeschrieben werden, und wir tun daher besser, Gallionella nur als eine Leptothrix-Art aufzufassen. Spirophyllum dagegen müssen wir wegen seiner flachen Bandform als selbständige Gattung aufstellen. Ihre Fäden sind in der Jugend beweglich; ob die Bewegung mittels Geißeln zustande kommt oder nicht, ist noch nicht festgestellt. Im ersteren Fall würde Spirophyllum große Aehnlichkeit mit dem von Warming beschriebenen, ebenfalls gewundenen und bandförmigen Spiromonas zeigen, im anderen Fall sich dicht an Thiothrix anschließen.

Weniger entfernt von Thiomonas als Leptothrix steht Cladothrix (Sphaerotilus), der noch echte lophotriche Monasformen bildet, ferner Clonothrix und Crenothrix, welche die entsprechenden unbeweglichen Kokken- oder Sarcinenformen sind. Am richtigsten fassen wir Clonothrix als eine Crenothrix-Art (Crenothrix dichotoma) auf, weil die einzige wesentliche Abweichung von der gewöhnlichen Crenothrix polyspora darin besteht, daß er ebenso wie Cladothrix dichotoma falsche Verzweigungen bildet, ein Merkmal, dem keine größere systematische Bedeutung als der Traubenkokkenbildung (der Bildung von Staphylokokken) zuzuschreiben ist. Die genannten schwefelfreien Fadenbakterien sind alle mit Ausnahme von Spirochaete und Cladothrix, Eisenbakterien. Das System der Schwefel- und Fadenbakterien gestaltet sich also folgendermaßen:



1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIX. 1907. p. 502.

Während die bisher behandelten Bakterienfamilien nur Seitenäste — allerdings mächtige Seitenäste, aus denen die Pilze und die Pflanzen entspringen [1]) — bilden, müssen wir die denitrifizierenden Bakterien, die wir jetzt besprechen werden, als den Hauptast des Bakteriensystems betrachten, weil sie die zwei Ordnungen der Bakterien miteinander verbinden. Die denitrifizierenden Monasarten sind meistens durch die Erzeugung von Bacteriofluorescein gekennzeichnet. Je nachdem sie die Gelatine verflüssigen oder nicht, wollen wir sie Liquidomonas oder Denitromonas nennen [2]). Ein Hauptrepräsentant für die Gattung Liquidomonas ist die stark verbreitete Wasserbakterie Bacterium fluorescens liquefaciens (also Liquidomonas fluorescens). Dieselbe zeichnet sich — wie die meisten Bakterien mit polaren Geißeln — dadurch aus, daß sie kein nennenswertes Spaltungsvermögen gegenüber Kohlenhydraten und Aminosäuren besitzt. Da sie dagegen nicht nur peptonisierend, sondern auch fettspaltend ist, muß sie als ein ausgesprochener Fleischfresser bezeichnet werden. Ihre Nahrung wird daher von Anfang an aus den Leichen der vielen Tierchen, die sich vor der Entstehung der Pflanzen entwickelt hatten, bestanden haben.

Ebenso wie bei den Schwefelbakterien können wir uns auch hier eine Entwickelung gegen die eine Seite in Kugelformen und gegen die andere Seite in Schraubenformen denken. Ob schwefelfreie Kokken mit polaren Geißeln wirklich existieren, ist, weil die Kokken keinen Pol haben, schwierig zu entscheiden. Besonders schwierig ist es, zwischen lophotrichen und peritrichen Kokken zu unterscheiden. Sämtliche Geißeln müßten jedenfalls genau von einem Punkt ausgehen, um einen Coccus mit Sicherheit als lophotrich bezeichnen zu können. Ellis [3]), der einzige, welcher diese Fragen zum Gegenstand besonderer Untersuchungen gemacht hat, meint, daß die Streptokokken stets 1—3 endständige Geißeln besitzen; betrachtet man indessen seine Zeichnungen, so scheint z. B. Streptococcus pyogenes peritrich zu sein. Nach demselben Forscher sollen die Mikrokokken entweder monotrich oder peritrich und die Sarcinen stets peritrich sein. Die schwefelfreien Kokken mit polaren Geißeln hätten sich also höchstens dazu entwickelt, sich nach zwei Richtungen teilen zu können. Sollen diese hypothetischen Organismen in die übrige Familie hineinpassen, so müssen sie vorzugsweise durch Sauerstoffatmung leben und anspruchslose Wasserbakterien sein. Nach ihrem Verhalten der Gelatine gegenüber benennen wir sie Liquidococcus und Solidococcus.

Bessere Kenntnis haben wir von den Schraubenformen der vorliegenden Familie. So kennen wir alle möglichen Uebergänge von Liquidomonas zu den Leuchtvibrionen; denn es kommen Arten der ersteren Gattung vor, die gekrümmt, und Arten der letzteren, die ganz gerade sind. Diese Vibrionen leben nicht nur auf toten Tieren, sondern können auch auf Crustaceen und Fischen schmarotzen und dadurch dieselben noch am Leben leuchtend machen. Denken wir uns, daß sich die Leuchtvibrionen zu den auch für die Säugetiere gefährlichen Vibrionen,

1) Daß die Pilze und Algen von den Bakterien mit polaren Geißeln abstammen, zeigt sich dadurch, daß ihre Schwärmsporen auch immer monotrich oder lophotrich sind.

2) Wenn auch die Fähigkeit der Bakterien zur Ausscheidung von proteolytischen Enzymen von verschiedenen Ursachen beeinflußt werden kann, so müssen wir gleichwohl — da nichts für die Lebensweise der Bakterien charakteristischer ist — dieser Fähigkeit die allergrößte systematische Bedeutung zuschreiben.

3) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 546.

wozu Vibrio cholerae gehört, weiter entwickeln, so haben wir die ganze Skala von Saprophyten durch Parasiten zu den echten pathogenen Bakterien. Mit dieser Entwickelung wächst das Vermögen zur Spaltung von Kohlenhydraten und Aminosäuren (d. h. zur Bildung von Milchsäure und Indol). Wir wollen den gelatineverflüssigenden Vibrionen den Gattungsnamen Liquidovibrio geben. Sogar Liquidovibrio cholerae ist noch imstande, Nitrat zu Nitrit zu reduzieren, eine Reminiszenz der denitrifizierenden Eigenschaften, die bereits in der Gattung Liquidomonas[1]) viel seltener als in der Gattung Denitromonas völlig entwickelt sind.

Es ist nicht leicht zu verstehen, welchen Nutzen die Bakterien davon haben können, fluoreszierende Farbstoffe zu erzeugen oder Licht auszusenden. Einen Wink in der richtigen Richtung gibt es vielleicht, wenn man bedenkt, daß es aller Wahrscheinlichkeit nach noch finster auf der Erde war, als sich diese Fähigkeiten entwickelten[2]), und daß die Fluoreszenz und die Phosphoreszenz zueinander in Wechselwirkung haben stehen müssen, weil ihre Erzeuger an denselben Orten wuchsen. Da man heutzutage nach E. Wiedemanns Vorschlag alle Lichtphänomene, die nicht einfach durch Erhitzung verursacht werden, als Luminiszenz bezeichnet, so wollen wir auch die hier behandelten, hauptsächlich aus fluoreszierenden und photogenen Bakterien bestehenden Gattungen unter dem Familiennamen Luminibacteraceae zusammenfassen.

Als Schraubenformen, die sich aus der Gattung Denitromonas entwickelt haben, rechne ich die erwähnten sulfatreduzierenden Vibrionen; denn das Reduktionsvermögen von Nitrat und von Sulfat müssen ja verwandte Eigenschaften sein. Die weitere Entwickelung dieser bereits spirillenähnlichen Vibrionen, Solidovibrio, führt zu den echten (schwefelfreien) Spirillen. Ein wesentlicher Unterschied zwischen den monotrichen Vibrionen und den lophotrichen Spirillen existiert nicht; denn es ist selbstverständlich, daß, währenddem die kürzeren Bakterien mit unvollständigem Schraubengang sich mit einer einzigen Geißel als Propell begnügen können, so müssen die längeren, stärker gewundenen Formen einen ganzen Büschel haben.

Die Gattungen Solidovibrio und Spirillum wollen wir zur Familie Reducibacteriaceae sammeln. Diese und die Familie Luminibacteriaceae (mit Beifügung der Gattungen Sulfomonas und Denitrobacterium) bekommen somit die folgende Stammtafel:

|
Sulfomonas
Liquidococcus? } | { Solidococcus?
Denitromonas
Liquidovibrio — Liquidomonas } | { Solidovibrio — Spirillum
Denitrobacterium
|

Hiermit sind wir mit den Cephalotrichinae fertig. Werfen wir einen Blick auf die zu dieser Ordnung gehörenden Bakterien zurück, so sehen wir, daß sie — ebenso wie die Tiere — ihre Energie fast ausschließlich durch Oxydationsprozesse gewinnen, und daß sie alle, mit Ausnahme der den Mycomyceten näherstehenden Aktinomyceten (jeden-

1) Außer Liquidomonas pyocyanea kennt man eigentlich nur noch die nicht-fluoreszierende Liquidomonas Schirokikhi (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. II. 1896. p. 205).

2) Wir wollen in diesem Zusammenhang daran erinnern, daß viele Tiefmeerfische leuchten.

falls von Anfang an) typische Wasserbakterien sind[1]). Demgemäß gedeihen verhältnismäßig viele dieser Arten nicht oder nur schlecht auf den gewöhnlichen Nährsubstraten, weil diese in bezug auf lösliche organische Substanzen zu konzentriert sind. Endosporenbildung kommt nur bei einzelnen schwefelfreien Spirillen vor; dieselben müssen daher zu den spätest entstandenen Formen gehören. Bevor wir diese Bakterienordnung verlassen, werde ich eine Uebersicht über sämtliche hierzu gehörende Familien und Gattungen geben:

I. Bakterienordnung: **Cephalotrichinae.**

1. Familie: Oxydobacteriaceae.	1. Gattung:	Methanomonas.
	2. „	Carboxydomonas.
	3. „	Hydrogenomonas.
	4. „	Acetimonas.
	5. „	Nitrosomonas.
	6. „	Nitromonas.
	7. „	Azotomonas.
2. Familie: Actinomycetes.	1. Gattung:	Rhizomonas.
	2. „	Corynemonas.
	3. „	Mycomonas.
	4. „	Actinomyces.
3. Familie: Thiobacteriaceae.	1. Gattung:	Sulfomonas.
	2. „	Thiomonas.
	3. „	Thiococcus.
	4. „	Thiospirillum.
4. Familie: Rhodobacteriaceae.	1. Gattung:	Rhodomonas (Chromatium).
	2. „	Rhabdomonas (Rhabdochromatium).
	3. „	Rhododictyon (Thiodictyon).
	4. „	Amoebomonas (Amoebobacter).
	5. „	Rhodothece (Thiothece).
	6. „	Rhodopolycoccus (Thiopolycoccus).
	7. „	Rhodococcus (Thiopedia).
	8. „	Lamprocystis.
	9. „	Rhodocystis (Thiocystis).
	10. „	Rhodocapsa (Thiocapsa).
	11. „	Rhodosarcina (Thiosarcina).
	12. „	Rhodospirillum (Thiospirillum).
5. Familie: Trichobacteriaceae[2]).	1. Gattung:	Cladothrix.
	2. „	Crenothrix.
	3. „	Beggiatoa.
	4. „	Thiothrix.
	5. „	Leptothrix.
	6. „	Spirophyllum.
	7. „	Spirochaete.
6. Familie: Luminibacteriaceae.	1. Gattung:	Denitromonas.
	2. „	Liquidomonas.
	3. „	Liquidovibrio.
	4. „	Liquidococcus?.
	5. „	Solidococcus?.
7. Familie: Reducibacteriaceae.	1. Gattung:	Solidovibrio.
	2. „	Spirillum.

Wir wollen nun zur zweiten Bakterienordnung, Peritrichinae, übergehen. Hier sind nur Stäbchen- und Kugelformen bekannt. Die diffusen Geißeln eignen sich nämlich nicht für die Schraubenformen, indem sie sich während der Bewegung in einander verwickeln würden.

---

1) Die hautbildenden Bakterien der Familie Oxydobacteriaceae leben nur an der Oberfläche, während die meisten Bakterien der anderen Familien auch in größeren oder geringeren Tiefen gedeihen können.

2) Die Familie Trichobacteriaceae enthält so verschiedenartige Organismen, daß es korrekter wäre, dieselbe in 3 oder 4 andere Familien aufzulösen.

Am ältesten ist, wie gesagt, die Gattung Denitrobacterium[1]), die mittels gebundenen Sauerstoffes oxydiert; hiervon geht die Entwickelung allmählich zu den Bakterien über, welche mittels gebundenen Wasserstoffes reduzieren. Bei der ersten Erwägung scheint überhaupt kein Unterschied zwischen diesen zwei Prozessen zu sein, denn es findet in beiden Fällen eine Oxydation eines Stoffes und eine Reduktion eines anderen statt. So wird z. B. bei der inneren Atmung der Tiere Oxyhämoglobin zu Hämoglobin reduziert, und bei der Buttersäuregärung entstehen die Oxydationsprodukte Kohlensäure und Wasser. Wenn wir nichtsdestoweniger den ersteren Prozeß als eine Oxydation und den letzteren als eine Reduktion bezeichnen, so liegt das darin, daß das Primäre im ersteren Fall die Freimachung von Sauerstoff (wahrscheinlich mittels der Katalase) und im anderen Fall die Freimachung von Wasserstoff mittels der Spaltungsenzyme ist. Daß letzteres zutrifft, wissen wir daher, daß ein großer Teil des Wasserstoffes als solcher entweicht. Die intracellulären Kräfte sind also im ersteren Fall Katalase + Peroxydase und im zweiten Fall Spaltungsenzyme + Reduktase. Demgemäß ist im Blute der höheren Tiere und in den denitrifizierenden Bakterien das erste Enzymsystem und bei den obligat anaëroben Bakterien das zweite Enzymsystem vorherrschend. Bei den echten Milchsäurebakterien findet man außer den Spaltungsenzymen nur eine Spur von Oxydase und Reduktase, aber, wie bei den Buttersäurebakterien, gar keine Katalase, und endlich bei den fakultativ anaëroben Bernsteinsäurebakterien kommen alle 4 Enzymsorten in merklichen Mengen vor[2]). Die letztere Bakteriengruppe bildet daher das natürliche Bindeglied zwischen den denitrifizierenden Bakterien einerseits und den echten Milchsäurebakterien und den obligat anaëroben Bakterien andererseits.

Von den Bernsteinsäurebildnern stehen die Coli-Bakterien in morphologischer und kultureller Beziehung der Gattung Denitrobacterium am nächsten. Da einige Coli-Bakterien sogar in ziemlich reinem Wasser gedeihen, ist es wahrscheinlich, daß sie ursprünglich anspruchslose Wasserbakterien waren, und daß sich ihr großes Vermögen zur Spaltung von Kohlenhydraten erst mit der zunehmenden Vegetation entwickelt hat. Da die Coli-Bakterien nicht selber peptonisieren können, sondern imstande sind, die durch die Verdauungsenzyme der Tiere gebildeten Peptone und Aminosäuren weiter abzubauen, so ist es leicht verständlich, daß sie sich zu typischen Darmbakterien entwickelt haben[3]). Da sie wegen der Säurebildung die Fäulnis im Dickdarm der Säugetiere unterdrücken, sind sie den letzteren sehr nützlich. Wir haben es eigentlich mit einer Symbiose zu tun, ein Verhältnis, das nur glück-

---

1) Am besten untersucht bezüglich der Begeißelung ist das von Ampiola und Garino beschriebene Denitrobacterium agile. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. II. 1896. p. 673).

2) Siehe meine früher zitierte Arbeit Tabelle I, p. 219 (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XVIII. 1907). Man darf auf das Vorkommen von Oxydasen bei einer Bakterie schließen, sobald dieselbe imstande ist, Alkohol (oder Kohlenhydrate) zu Essigsäure oder Tryptophan (oder Peptone) zu Indol zu oxydieren.

3) Der Verdauungskanal der Tiere scheint übrigens zu allen Zeiten der Sitz von Bakterien gewesen zu sein. So ist z. B. nach Hohl (Landwirtschaftl. Jahrb. d. Schweiz. 1904. p. 450) der Regenwurmkot besonders reich an nitrifizierenden Bakterien, nach Hjalmar Jensen (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. IV. 1898. p. 401) werden denitrifizierende Bakterien — also die Stammväter der Coli-Bakterien — stets in den Exkrementen der Pflanzenfresser gefunden, und endlich ist an die große Bedeutung der Cellulosebakterien bei der Verdauung der Pflanzenfresser zu erinnern.

bringend ist, solange beide Teile einander die Stange halten können. Wird der eine geschwächt, so nimmt der andere überhand, und es ist daher kein Wunder, daß im Laufe der Zeit so viele pathogene Coli-Bakterien entstanden sind; denn ihre normale Lebensweise hat ihnen stets Gelegenheit geboten, sich nach dieser Richtung zu entwickeln. Wenn man, wie wir, kein besonderes Gewicht auf den Umstand legt, ob die Bakterien beweglich sind oder nicht, so fallen die unnatürlichen Schranken zwischen den Coli- und Aërogenes-Bakterien weg. Die letzteren sind bloß Coli-Bakterien, die wegen Uebereränährung (z. B. durch Züchtung in der Milch) die Eigenschaft, dicke Kapseln oder Schleim zu bilden, erworben haben, eine Degeneration (siehe die schleimige Gärung), zu welchen die Milchsäurebakterien disponiert sind. Wir wollen die artenreiche Gattung der Coli-Bakterien einfach Bacterium nennen[1]).

Eine weitere Entwickelung nach der anaëroben Richtung hin zeigen die echten Milchsäurebakterien, die aus Kohlenhydraten hauptsächlich Milchsäure, keine Bernsteinsäure und in der Regel nur eine Spur von Essigsäure oder anderen flüchtigen Produkten bilden. Interessante Uebergangsformen sind B. casei δ und B. casei γ[2]), die, obwohl sie in der Milch reichliche Mengen Bernsteinsäure erzeugen, in der Stichkultur gleichmäßig, ohne sich auf der Oberfläche auszubreiten, wachsen. Alle echten Milchsäurebakterien sind unbewegliche Stäbchen oder Streptokokken. Die Stäbchen nähern sich den obligat anaëroben Bakterien, indem sie am besten in der Tiefe gedeihen. Sie entwickeln sich nicht ohne Zucker, sind aber dafür die kräftigsten Milchsäurebildner und können in der Milch bis 2,5 Proz. Milchsäure erzeugen[2]). Da sie im Gegensatz zu den Streptokokken das Kasein angreifen, gebe ich ihnen den Gattungsnamen Caseobacterium. Es werden hierbei weder Peptone noch sekundäre Spaltungsprodukte, sondern fast ausschließlich Monoaminosäuren gebildet. Da die Kaseobakterien ebenso wie die Coli-Bakterien keine proteolytischen Enzyme ausscheiden, so muß ihre Zerlegung des Kaseins ein intracellulärer oder postmortaler Vorgang sein[3]). Der bekannteste Milchsäure-Streptococcus ist Streptococcus lacticus (Kruse), auch Bacterium lactis acidi (Leichmann)[4]) genannt, weil er sich vor der Teilung deutlich streckt. Zur Gattung Streptococcus gehören die ausgesprochensten Schleimbildner. Einer der Gründe dazu, daß wir die Milchsäurebakterien von den Coli-Bakterien — und nicht umgekehrt — abgeleitet haben, ist der, daß die ersteren organische Stickstoffquellen verlangen, während die letzteren

---

1) Ob die nichtverflüssigenden, stark zuckervergärenden Leuchtbakterien zur Gattung Bacterium oder zu den anderen photogenen Bakterien (was ich für das Richtigere halte) gerechnet werden müssen, ist schwierig zu entscheiden, weil bei ihnen der Nachweis von Geißeln noch nicht gelungen ist. Das hierzu gehörende, von Molisch näher studierte Bacterium phosphoreum (Leuchtende Pflanzen. Jena 1904) zeigt eine eigentümliche Anpassung an das Fleisch der höheren Tiere, indem es im Gegensatz zu den Leuchtvibrionen kräftiger mit Kalisalzen als mit Natronsalzen leuchtet.

2) Jensen, Orla, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XIII. 1904. p. 604 u. 526.

3) Siehe den Schluß der Anmerkung 1 p. 310.

4) Da Leichmann als erster B. lactis acidi scharf charakterisiert hat, müssen wir dem öfters gebrauchten Namen Bacterium Güntheri alle Berechtigung absprechen. Ueberhaupt sollte man womöglich die Verwendung von Personennamen als Artnamen vermeiden; denn der Name dessen, der eine Bakterie entdeckt, beschrieben, getauft oder umgetauft hat, besitzt nur historisches Interesse. Solche Namen sind anstatt eine Stütze des Gedächtnisses nur ein weiterer Ballast desselben. Ohne die vernünftige Nomenklatur der Chemie hätte sich diese Wissenschaft kaum so schnell entwickelt.

sich mit anorganischen begnügen können, und daher auch älter sein müssen. Bekanntlich können die Coli-Bakterien aus einem bestimmten Kohlenhydrat — je nach der vorliegenden Stickstoffquelle — optisch verschiedene Milchsäuren bilden[1]; die Milchsäurebakterien erzeugen dagegen — eben weil sie nur organische Stickstoffquellen verwerten können — aus einem bestimmten Kohlenhydrat stets die gleiche Milchsäure. In der Milch bilden die Kaseobakterien des Yoghurts und der Gioddu Linksmilchsäure, Caseobacterium ε (Bacillus casei ε, Freudenreich) inaktive Milchsäure und das kurzgliedrige Caseobacterium α wie die allermeisten Streptokokken Rechtsmilchsäure[2].

Da die Propionsäurebakterien[3] wie die Coli-Bakterien sich dadurch auszeichnen, daß sie die gebildeten Spaltungsprodukte sowohl oxydieren als auch reduzieren können, ist es natürlich, auch sie von den letzteren abzuleiten. In kultureller Beziehung nehmen sie eine Zwischenstellung zwischen den Aërogenes-Bakterien und den Milchsäurebakterien ein, indem sie in der Stichkultur sich auf der Oberfläche um so weniger ausbreiten, je größer ihre Fähigkeit zur Bildung von Propionsäure ist. Sie bilden unbewegliche Stäbchen oder Diplokokken, die völlig an Streptococcus lacticus erinnern. Sie vergären sowohl Laktose als auch Laktate. Sie greifen das Kasein nicht an, sondern spalten die von den peptonisierenden Bakterien gebildeten Produkte weiter. Wegen ihrer reduzierenden Eigenschaften entwickeln sie Schwefelwasserstoff, wenn sie Pepton zur Verfügung haben. Wir wollen die Gattung Propionibacterium nennen.

Ebenso wie die echten Milchsäurebakterien und die Propionsäurebakterien können auch die echten Buttersäurebakterien als Organismen aufgefaßt werden, welche die den Coli-Bakterien eigentümliche Fähigkeit zum Abbau der Kohlenhydrate — jede in ihrer Weise — nach der anaëroben Richtung weiter ausgebildet haben. Da ich indessen vorziehe, die Buttersäurebakterien zum Schlusse zusammen mit den anderen obligat anaëroben Bakterien zu behandeln, wollen wir zuerst die Bakterien besprechen, deren Entstehung durch die weitere Ausbildung der Fähigkeit der Coli-Bakterien zum Abbau von N-haltigen Substanzen gedacht werden kann. Die Entwickelung geht hier nach der aëroben Richtung durch die Proteus-Bakterien zu den sporenbildenden Heu- und Kartoffelbacillen.

Da die nicht gelatineverflüssigenden Proteus-Arten, wie z. B. Bacterium Zopfii, den Milchzucker nicht angreifen, müssen sie von den allerältesten Coli-Bakterien abgeleitet werden, und sie unterscheiden sich eigentlich nur von diesen letzteren durch die eigenartigen Ausläufer, welche ihre Kolonieen in der Gelatine bilden. Diese Erscheinung, die für die meisten Proteus-Arten charakteristisch ist, finden wir bei den nächstverwandten Bacillen, so bei Bacillus mycoides, wieder. Da dies uns indessen nicht dazu veranlaßt, den letzteren den Proteus-Arten zuzuzählen, so ist auch kein zwingender Grund vorhanden, rankende Bakterien, denen das Vermögen zur Ausscheidung von proteolytischen Enzymen vollständig abgeht, zu den Proteus-Bakterien zu rechnen,

1) Wenn die Coli-Bakterien nur anorganische Stickstoffquellen zur Verfügung haben, ist die gebildete Milchsäure nicht als ein bloßes Abfallprodukt aufzufassen, sondern sie soll zum Teil für die Eiweißsynthese benutzt werden, und es ist deshalb ganz natürlich, wenn sie eine besondere sterische Konfiguration erhält.

2) Jensen, Orla, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XIII. 1904. p. 520 u. 523.

3) Freudenreich u. Jensen, Orla, Ueber die im Emmentalerkäse stattfindende Propionsäuregärung. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XVII. 1906. p. 529.)

wenn wir doch hiermit die Vorstellung von ausgeprägten Fäulnisbakterien verbinden. Da nun einmal scharf getrennte Gattungen in der Natur nicht vorkommen, wir aber bloß aus praktischen Gründen gewisse Arten zu Gattungen gruppieren, so finde ich es praktischer, die Grenze zwischen den Coli- und Proteus-Bakterien dort zu setzen, wo sich das Gelatineverflüssigungsvermögen zu entwickeln anfängt. Die Definition einer Proteus-Bakterie wird daher: Eine sporenfreie, peritriche Stäbchenbakterie, welche die Gelatine verflüssigen kann, und ihr Gattungsname muß in Analogie mit meiner übrigen Nomenklatur Liquidobacterium sein. Laut dieser Definition müssen wir unter anderem die farbstoffbildenden Bakterien B. prodigiosum und B. violaceum als Proteus-Bakterien betrachten. Dies stimmt auch gut; denn beide erzeugen Indol und andere stinkende Produkte. Ueberdies bildet Liquidobacterium prodigiosum ebenso wie Liquidobacterium vulgare aus Zucker vornehmlich Bernsteinsäure und Ameisensäure. Es erinnert durch sein hohes Fettspaltungsvermögen an Liquidomonas fluorescens[1]) und durch seine Vorliebe für stärkehaltige Substanzen an die Kartoffelbacillen.

Die aëroben Bacillen, die Gattung Bacillus, sind wie die Proteus-Bakterien mit proteolytischen Enzymen reichlich ausgestattet. Mehrere Arten besitzen auch Diastase, und sie stehen also im ganzen, was auch die große Fähigkeit zur Bildung von Endosporen zeigt, auf einer hohen Entwickelungsstufe. Da sie obligat aërob sind, leben sie selbstverständlich vorzugsweise durch Sauerstoffatmung. Kohlenhydrate verbrennen sie demgemäß entweder vollständig oder sie oxydieren dieselben wenigstens zu flüchtigen Säuren. Sie haben gleichwohl die reduzierenden Eigenschaften ihrer Vorfahren nicht ganz verloren, was sich dadurch zeigt, daß sie Milchsäure zu Propionsäure[2]) und Aminosäuren (also auch Eiweißstoffe und Peptone) zu Ammoniak und flüchtigen Säuren (z. B. Buttersäure und Isovaleriansäure[3])) reduzieren können. Die aëroben Bacillen sind überhaupt die stärksten Ammoniakbildner aller Bakterien. Merkwürdigerweise erzeugen nur wenige Arten Indol. Ob der Grund hierzu der ist, daß sie die aliphatischen Aminosäuren den aromatischen vorziehen, oder daß sie vielleicht den Benzolkern völlig verbrennen, ist noch nicht untersucht worden. Als Stammform der Gattung Bacillus wählen wir B. mycoides, und zwar nicht nur wegen der proteusähnlichen Kolonieen, sondern auch, weil er die verbreitetste Erdbakterie ist. Nach Emmerling[4]) bildet er aus Traubenzucker Milchsäure und offenbart dadurch seinen Ursprung. Zu seinen nahen Verwandten gehören die unbeweglichen Formen, Bacillus Ellenbachensis und Bacillus anthracis, die beide in der Gelatine Ausläufer bilden. Die wichtigsten Repräsentanten der vorliegenden Gattung sind sonst Bacillus subtilis und Bacillus vulgatus; von diesen steht ersterer dem Bacillus mycoides am nächsten. Wir müssen uns daher denken, daß sich die Gattung Bacillus von den rankenden Arten durch die Heubacillen zu den Kartoffelbacillen — d. h. von Bakterien mit weniger widerstandsfähigen Sporen zu solchen mit den widerstandsfähigsten

1) Siehe meine Arbeit: Studien über das Ranzigwerden der Butter. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 11.)

2) Jensen, Orla, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XIII. 1904. p. 516. Tabelle XIII.

3) Wenn die Spaltung der Aminosäuren eine bloße Hydrolyse wäre, so würden nebst Ammoniak lediglich nicht-flüchtige Oxysäuren entstehen.

4) Berl. Berichte. 1897. p. 1869.

Sporen — entwickelt hat, was recht natürlich scheint, da ja die Entwickelung überhaupt von sporenfreien zu sporenbildenden Formen gegangen ist. Eigentümlich für die aëroben Bacillen ist das große Temperaturintervall, innerhalb dessen sie gedeihen können. Die Heubacillen z. B. wachsen zwischen 6—50°. Eine weitere Anpassung an die höheren Temperaturen und damit Abgewöhnung von den niedrigen führt zu den thermophilen Bakterien. Diese bilden Sporen, welche hinsichtlich ihrer Widerstandsfähigkeit sogar diejenigen der Kartoffelbacillen übertreffen. So erklärt sich das Phänomen, daß hochsterilisierte Milch, welche Wochen lang bei 35° unverändert blieb, bisweilen nach wenigen Tagen bei 70° gerinnt. Es wäre vielleicht angezeigt, Thermobacillus als selbständige Gattung aufzustellen.

Einen besonderen Zweig der aëroben Bacillen bildet die Gattung Urobacillus. Diese ist jedoch ohne Zweifel desselben Ursprungs wie die Gattung Bacillus; denn die meisten Proteus-Bakterien (auch Lb. prodigiosum) hydrolysieren den Harnstoff. Diese Fähigkeit wird auch bei einzelnen Coli-Arten, vielen Kokken und den meisten anaëroben Fäulnisbakterien angetroffen und kann deshalb nicht für sich allein als ein Gattungsmerkmal dienen. Eine Urobakterie ist erst dann typisch, wenn sie sich derart an die durch die Hydrolyse des Harnstoffes hervorgerufene hohe Alkalität gewöhnt hat, daß sie für die gewöhnlichen Nährsubstrate zu säureempfindlich geworden ist. Die ausgesprochensten Urobakterien verflüssigen die Gelatine nicht, denn sie bedürfen keiner anderen Stickstoffquellen als des normalerweise reichlich vorhandenen Harnstoffes, und proteolytische Enzyme würden wegen der gebildeten großen Ammoniakmenge überhaupt nicht wirken können. Die Entwickelung von Fäulnisbakterie zu Urobakterie geht somit — im Gegensatz zu dem, was sonst der Fall ist — von gelatineverflüssigenden zu nichtgelatineverflüssigenden Formen. Nach Miquel[1]) sollen die wichtigsten stäbchenförmigen Urobakterien die folgenden sein:

Nichtsporenbildend	Urobacillus Miquelii	Gelatineverflüssigend
	„ Schützenbergii I	
	„ Schützenbergii II	
Sporenbildend	„ Freudenreichii	
	„ Leubei	Nichtgelatineverflüssigend
	„ Maddoxii	
	„ Pasteurii	
	„ Duclauxii	

Da die drei ersten Arten keine Sporen bilden, sind sie — laut unserer Definition — einfach den Proteus-Bakterien zuzuzählen; Liquidobacterium Miqueli bildet auch in der Gelatine die für diese Gattung charakteristischen Ausläufer. Ein gleiches tut die erstgenannte sporenbildende Art, Urobacillus Freudenreichii, und sie nähert sich dadurch wie auch durch die Gelatineverflüssigung den ältesten Arten der Gattung Bacillus.

Da die Kugelform ein spezieller Fall der Stäbchenform ist, so erlauben wir uns, auch bezüglich dieser Bakterienordnung die Kokken von den Stäbchen abzuleiten. Ohne Schwierigkeit fanden wir die systematische Stellung der Milchsäurestreptokokken; von diesen werden wir durch die Galtstreptokokken, Streptococcus agalactiae, die noch reichlich Milchsäure bilden[2]), zu dem nur schwach zuckervergärenden Streptococcus pyogenes geführt. Von Streptokokken, die Gelatine ver-

1) Lafars Handbuch der technischen Mykologie. Bd. III. 1904. p. 77.
2) Müller, Leo, Inaugural-Dissertation. Zürich 1906.

flüssigen, kennt man nur noch wenige Arten; das größte Interesse bietet der Urheber der Sauerbrut bei den Bienen [1]), der mit dem Streptococcus lacticus nahe verwandt zu sein scheint. Weit verbreiteter ist das Gelatineverflüssigungsvermögen bei den Mikrokokken, um dann bei den Sarcinen wieder abzunehmen. Eine scharfe Grenze zwischen den zwei letzteren Gattungen gibt es nicht; denn viele Sarcinen teilen sich überhaupt nur unter besonderen Umständen nach allen drei Richtungen. Von den beiden Gattungen sind typische Milchsäurebakterien bekannt. Da viele zuckervergärende Mikrokokken Hautbakterien, d. h. Ektoparasiten sind, gehören natürlicherweise auch mehrere pathogene Arten zu dieser Gruppe, so z. B. die verschiedenen Varietäten des Micrococcus pyogenes. Als Hautbakterien gelangen die Mikrokokken während des Melkens in so reichlicher Menge in die Milch, daß sie oft den Hauptbestand der Mikroflora der frischgemolkenen Milch ausmachen. Als Hautbakterien haben sie auch Gelegenheit, sich als Urokokken (ja eventuell als Gonokokken) zu entwickeln. Es ist selbstredend, daß man nicht allein nach dem Verhalten gegenüber den Kohlenhydraten entscheiden kann, zu welcher Bakterienordnung ein Coccus gehört; denn wir haben gesehen, daß monotriche Bakterien (gewisse Vibrionen) vorkommen, die Zucker vergären können, und daß umgekehrt peritriche Bakterien — indem sie pathogen werden — diese Fähigkeit fast völlig einbüßen. Nur die Weise, in welcher die Geißeln inseriert sind, kann hier entscheidend sein. Zeigt aber ein vorliegender Coccus sich als peritrich, so braucht seine systematische Stellung damit noch nicht abgemacht zu sein. Ist er z. B. stark peptonisierend, aber nur schwach milchsäurebildend, so kann man ihn mit gleichem Recht von den Proteus-Bakterien wie von den Milchsäurebakterien ableiten [2]). Besondere Schwierigkeiten bietet Planosarcina ureae, die — weil sie Sporen bildet — auch von den Urobacillen abstammen könnte. Da wir indessen keine dazwischenliegenden sporenbildenden Urostreptokokken oder Uromikrokokken, sondern sowohl sporenfreie Uromikrokokken und Urosarcinen, als auch sporenbildende Sarcinen (Sarcina pulmonum), die den Harnstoff nicht hydrolysieren, kennen, so scheint es am richtigsten, Planosarcina ureae in die gewöhnlichen Sarcinen oder eventuell in eine davon abgeleitete besondere Sporosarcina-Gattung [3]) einzureihen. Die Tatsache, daß man unter den Kokken nur bei gewissen Sarcinen Endosporen trifft, spricht dafür, daß hier die Fähigkeit zur Teilung nach drei Richtungen die höchste Entwickelung bezeichnet. Die Sarcinen müssen deshalb, wie vom Anfang an angenommen, später als die Mikrokokken und diese wiederum später als die Streptokokken entstanden sein. Durch Streckung der letzteren kommen wir zur Urform, dem Kurzstäbchen, zurück. Bei einzelnen Azotomonas-Arten findet regelmäßig die ganze Entwickelung vom Kurzstäbchen bis zur Sarcina statt [4]). Wir wollen uns vorläufig

1) Burri, Bakteriologische Untersuchungen über die Faulbrut und Sauerbrut der Bienen. Aarau (Schweiz) 1906.

2) Da die peptonisierenden Milchsäurekokken reichliche Mengen Pepton, aber sehr wenig weitere Eiweißzersetzungsprodukte bilden, während die von den Proteus-Bakterien abgeleiteten Kokken durch Indolproduktion charakterisiert sein müssen, so ließe sich vielleicht zwischen den Gattungen Peptonococcus und Indolococcus unterscheiden.

3) Mit demselben Recht, wie man die Gattung Bacillus aufstellt, kann man auch die Gattungen Sporospirillum und Sporosarcina aufstellen, und eigentlich ist es inkonsequent, es nicht zu tun.

4) Freilich habe ich selber keine Azotomonas-Art sich nach mehr als zwei Richtungen teilen sehen, die Spezialisten auf diesem Gebiet meinen aber, wirkliche Sarcina-Formen beobachtet zu haben.

damit begnügen, innerhalb der Ordnung der peritrichen Bakterien die drei bekannten Kokkengattungen: Streptococcus, Micrococcus und Sarcina aufzustellen, und wir wollen uns denken, daß die nichtverflüssigenden, ausgesprochensten Milchsäurekokken den Hauptzweig bilden, wovon die verflüssigenden oder pathogenen Kokken ausstrahlen.

Diesen Erörterungen gemäß muß sich die vorliegende Bakterienordnung folgendermaßen entwickelt haben:

Denitrobacterium

Bacillus, Urobacillus } Liquidobacterium — Bacterium — (Die Buttersäurebakterien) —

Propionibacterium — Streptococcus — Caseobacterium

Micrococcus

Sarcina

Da die hier besprochenen Bakterien alle von Pflanzenresten (Kohlenhydraten) oder Tierresten (Eiweißstoffen), von Exkrementen oder Harn oder von der Milch der Säugetiere leben, so ist es klar, daß wir nun in die späteren Erdperioden vorgerückt sind. Die peritrichen Bakterien haben sich deshalb auch vom gemeinsamen Ursprung aller Organismen weit entfernt, sie haben sich nach der Richtung, eigenartige Gärungen ausführen zu können, spezialisiert, und viele von ihnen können Sauerstoff — nicht nur in freiem Zustande, sondern auch in der Form von Oxydationsmitteln (Salpeter) — entbehren, ja für einzelne Arten ist im Anfang ihrer Entwickelung der Sauerstoff sogar ein Gift geworden. Besonders in einer Beziehung weichen einige der spätesten Bakteriengattungen, nämlich die aëroben Bacillen und die Kokken, von allen anderen Lebewesen ab, indem sie permeabel statt semipermeabel sind. Diese Entdeckung verdanken wir den interessanten Untersuchungen von Alfred Fischer über die Plasmolyse der Bakterien [1]). Da die echten Milchsäurebakterien und die aëroben Bacillen aus ihren Energiequellen nur verhältnismäßig wenige Kalorien gewinnen, so ist es natürlich, daß gerade diese sich andererseits so entwickelt haben, daß sie keine nennenswerte Arbeit auf die Diffusionsprozesse zu spenden brauchen. In der neuesten Zeit hat Viktor Brudny [2]) darauf aufmerksam gemacht, daß je mehr permeabel eine Bakterie ist, desto besser sie sich nach Gram färben läßt. Unter den Fadenbakterien, Aktinomyceten und ihren Abkömmlingen, den Mykomyceten, kennen wir jedoch grampositive Organismen, die sich mehr oder weniger deutlich plasmolysieren lassen. Nach Omeliansky [3]) ist auch eine der ältesten Bakterien, nämlich Nitrosomonas grampositiv.

Es erübrigt nur noch die Besprechung der obligat anaëroben Bakterien. Wie erwähnt, ist es durch die Erzeuger der Buttersäuregärung, daß diese an die fakultativ anaëroben Bakterien geknüpft werden. Als die älteste Buttersäurebakterie müssen wir Clostridium Pasteurianum betrachten, weil es den Milchzucker nicht vergärt, und weil es sich mit anorganischen Stickstoffquellen, und wohl gemerkt, nicht nur mit Ammoniak, sondern auch mit elementarem Stickstoff begnügen kann. Es wird deshalb wohl ursprünglich an solchen Stellen des Weltmeeres entstanden sein, wo eine lebhafte Denitrifikation stattgefunden

1) Vorlesungen über Bakterien. Jena 1903. p. 23.
2) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XXI. 1908. p. 62.
3) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIX. 1907. p. 263.

hat. Aus ähnlichen Gründen wie die nitrifizierenden Bakterien den denitrifizierenden vorangegangen sein müssen, so müssen auch diese letzteren den anaëroben Stickstoffsammlern vorangegangen sein; und nehmen wir an, daß diese Bacillen von den ältesten Coli-Bakterien abstammen, so gehören sie in der Tat auch zu den nächsten Abkömmlingen der Gattung Denitrobacterium. Nach Pringsheim[1]) ist C. Pasteurianum nur ein einzelner Repräsentant einer weitverbreiteten Gattung von Erdbakterien, und laut einer vorläufigen Mitteilung von Bredemann[2]) können alle echten Buttersäurebakterien zur Stickstoffassimilation befähigt werden. Eine Gruppierung derselben in solche, die sich mit anorganischen Stickstoffquellen begnügen können, und in solche, die nur gedeihen, wenn sie organische Stickstoffquellen zur Verfügung haben, ist deshalb nicht statthaft, sondern wir müssen alle diese Organismen, wozu nach Grassberger und Schattenfroh auch Bacillus Chauvoei gehört, unter der Gattungsbezeichnung Butyribacillus sammeln. Wahrscheinlich sind die ältesten obligat anaëroben Bacillen auch die ältesten Sporenbildner, denn ohne die Fähigkeit zur Erzeugung von Endosporen würden diese Bakterien im allerhöchsten Grade der Vernichtung durch den Luftsauerstoff ausgesetzt sein, sobald der Abbau des Substrats, in welchem sie sich entwickelt haben, vollbracht ist.

Eine weitere Entwickelungsstufe der echten Buttersäurebacillen bilden die pektinvergärenden Bakterien[3]), die Gattung Pectobacillus. Sie färben sich wie die vorhergehenden in der Regel blau mit Jod und vergären die gleichen Kohlenhydrate, greifen aber außerdem die Pektinstoffe an. Auch in ihrem Verhalten gegenüber den Proteinstoffen zeigen sie eine höhere Entwickelung, indem sie die Gelatine verflüssigen.

Von der Gattung Butyribacillus müssen wir ebenfalls die cellulosevergärenden Bakterien, die Gattung Cellulobacillus, ableiten. Während diese interessanten Mikroorganismen sich einerseits mit Ammoniak als einziger Stickstoffquelle begnügen können, zeigen sie andererseits eine eigentümliche Spezialentwickelung dadurch, daß sie imstande sind, ein so widerstandsfähiges Kohlenhydrat wie die Cellulose anzugreifen, und daß sie von den anaëroben Bakterien die Kohlenhydrate am besten ausnutzen (siehe die Methangärung). Da Cellulobacillus somit einen Kulminationspunkt bezeichnet, können wir nicht ohne zwingende Gründe hiervon andere Gattungen ableiten, sondern müssen diese Gattung als einen isolierten Seitenzweig betrachten.

Einen anderen Zweig bilden die anaëroben Fäulnisbakterien, die Gattung Putribacillus. Diese sind dadurch gekennzeichnet, daß sie die Eiweißstoffe unter Verbreitung eines furchtbaren Gestankes zersetzen. Die Entwickelung geht hier wie bei den aëroben Fäulnisbakterien von säurebildenden zu säureempfindlichen Arten. So entsprechen z. B. Bacillus bifermentans sporogenes[4]) und Bacillus oedematis maligni (welche Traubenzucker, aber nicht Milchzucker vergären), sowie Bacillus perfringens[4]) und Paraplectrum foetidum[5]) (die sowohl Traubenzucker als auch Milchzucker vergären, ja das letztere zerlegt sogar ebensowie Butyribacillus Chauvoei Milchsäure) den

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XX. 1908. p. 248.
2) Berichte der Deutschen botanischen Gesellsch. Bd. XXVIa. 1908. p. 362.
3) Siehe die Darstellung von Behrens im Lafarschen „Handbuch der technischen Mykologie". Bd. III. 1905. p. 275.
4) Tissier und Martelly, Ann. Pasteur. T. XVI. 1902. p. 865.
5) Jensen, Orla, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. p. 754.

Proteusbakterien, während *Bacillus putrificus*[1], den wir *Putribacillus vulgaris* nennen wollen, den aëroben Bacillen entspricht. Letztere Bakterie ist gar nicht zuckerspaltend, was sonst für fast alle fakultativ oder obligat anaëroben Bakterien charakteristisch ist, und sie muß sich daher die ganze nötige Energiemenge lediglich durch Zersetzung der Proteinstoffe verschaffen können. Innerhalb der anaëroben Bakterien hat sie deshalb die höchste Entwickelung als Eiweißvergärer, ebenso wie *Cellulobacillus methanigenes* als Kohlenhydratvergärer, erreicht.

Von den anaëroben Bacillen, die den Milchzucker nicht vergären, gebührt dem *Bacillus botulinus* besonderes Interesse dadurch, daß er unter den Bakterien bis jetzt das einzig bekannte Beispiel von einer reinen Giftpflanze ist. Er vermag nämlich nicht — im Gegensatz zu den anderen virulenten Bakterien — im tierischen Organismus sich zu entwickeln, und es kann deshalb hier nicht die Rede davon sein, daß er sich seine Virulenz durch ein Anpassungsphänomen angeeignet hat. Dies ist mit der nahe verwandten Erdbakterie, dem *Bacillus tetani*, wahrscheinlich auch nicht der Fall; nur war derselbe aber — wegen seiner Giftigkeit — von Anfang an besonders dazu veranlagt, pathogen zu werden. Wir wollen diese Bakterien wegen ihrer eigentümlichen Ektotoxine als eine besondere Gattung, *Botulobacillus*, betrachten, die jedoch der Gattung *Putribacillus* sehr nahe steht.

Der Zweig der anaëroben Bakterien gestaltet sich somit folgendermaßen:

Putribacillus }
Botulobacillus } Butyribacillus — Cellulobacillus
Pectobacillus

Bekanntlich schwellen die anaëroben Bacillen an der sporentragenden Stelle an, und werden dadurch in Clostridien oder Plectridien umgewandelt. Betrachten wir unser System, so sehen wir, daß die Entwickelung von den ersteren zu den letzteren, d. h. von mittständigen Endosporen, was bei den Bacillen das Normale ist, zu endständigen geht. Die Butyribacillen und die ältesten Putribacillen sind z. B. fast alle typische Clostridien. Von den Pectobacillen ist der des Hanfes ein *Clostridium* und der des Flachses ein *Plectridium*. Die späteren Putribacillen, sowie die Botulinobacillen und die Cellulobacillen sind alle Plectridien.

Wegen unserer geringeren Kenntnis von der vorhergehenden Bakterienordnung fiel es hier leicht, Familien aufzustellen; denn überall, wo die ausgestorbenen Zwischenformen fehlten, bildeten wir uns ein, scharfe Familiengrenzen zu erblicken. Weit künstlicher scheint die Einteilung in Familien betreffend die später entstandenen peritrichen Bakterien; denn hier sind die Zwischenformen nicht ausgestorben, und die ganze Ordnung bildet daher eine natürliche Familie. Wollen wir dennoch mehrere Familien aufstellen, so kann man z. B. die obligat anaëroben Gattungen von den übrigen trennen, und jede dieser beiden Gruppen wieder teilen, einerseits in die Formen, welche vorzugsweise Kohlenhydrate spalten — und also vornehmlich Säuren erzeugen — und andererseits in diejenigen, welche vorzugsweise Proteinstoffe spalten — und somit vornehmlich Basen erzeugen. Wir bekommen auf diese Weise vier Familien: *Acidobacteriaceae*, *Alkalibacteriaceae*, *Butyribacteriaceae* und *Putribacteriaceae*. Aus der folgenden Uebersicht ist zu ersehen, welche Gattungen zu jeder dieser Familien gehören:

1) Bienstock, Arch. f. Hyg. Bd. XXXVI. 1899. p. 335.

II. Bakterienordnung: **Peritrichinae.**

1. Familie: Acidobacteriaceae. 1. Gattung: Denitrobacterium [1]
2. „ Bacterium
3. „ Propionibacterium
4. „ Caseobacterium
5. „ Streptococcus
6. „ Micrococcus
7. „ Sarcina

2. Familie: Alkalibacteriaceae. 1. Gattung: Liquidobacterium
2. „ Bacillus
3. „ Urobacillus

3. Familie: Butyribacteriaceae. 1. Gattung: Butyribacillus
2. „ Pectobacillus
3. „ Cellulobacillus

4. Familie: Putribacteriaceae. 1. Gattung: Putribacillus
2. „ Botulobacillus

Die Hauptlinien des natürlichen Bakteriensystems können wir nun auf die folgende Weise ziehen:

(Siehe Figur p. 345.)

Dieser Stammbaum kann selbstverständlich keinen Anspruch auf absolute Korrektheit machen, im Gegenteil, wir müssen darauf gefaßt sein, daß er durch neue Untersuchungen und Entdeckungen große Veränderungen erleiden wird.

Wie man sieht, haben sich die Bakterien von den aëroben durch die denitrifizierenden bis zu den anaëroben Formen entwickelt, und diese Entwickelung von Sauerstoffatmung zu Spaltungsatmung ist — währenddem die Kohlenhydrate auf der Erde nach und nach reichlicher wurden — nicht nur im Hauptast, sondern auch in dem nach unten gerichteten Ast vor sich gegangen, denn ohne Zweifel entspringen die Alkoholhefen den Nachkommen der Actinomyceten [2]).

Während die obersten Zweige des Stammbaumes alle in typische, meistens sporenbildende Bakterien enden, so entwickeln sich die niederen Aeste zu Pilzen und Pflanzen. Da die Tiere ihre Energie durch Oxydation der Kohlenstoffverbindungen erhalten, so ist es wahrscheinlich, daß sie (die Flagellaten) von der Familie Oxydobacteriaceae, und zwar von den allerältesten Arten derselben abstammen; denn sobald Bakterien entstanden, konnten auch bakterienfressende Tiere leben [3]). Unter dem nebelhaften Begriff Urwesen, Protisten, müssen wir dieser Arbeit zufolge vor allem die älteren Bakterien, die Ordnung der Cephalotrichinae, verstehen, weil von diesen aus sich die übrige organisierte Welt nach den vier Hauptrichtungen, welche durch die Pflanzen, die Tiere, die Pilze und die neueren Bakterien, die Ordnung der Peritrichinae, charakterisiert sind, entwickelt hat. Zum Schlusse nur noch einige Worte über die spezielle Bedeutung, welche im großen Haushalt der Natur jedem dieser Reiche von Organismen zukommt.

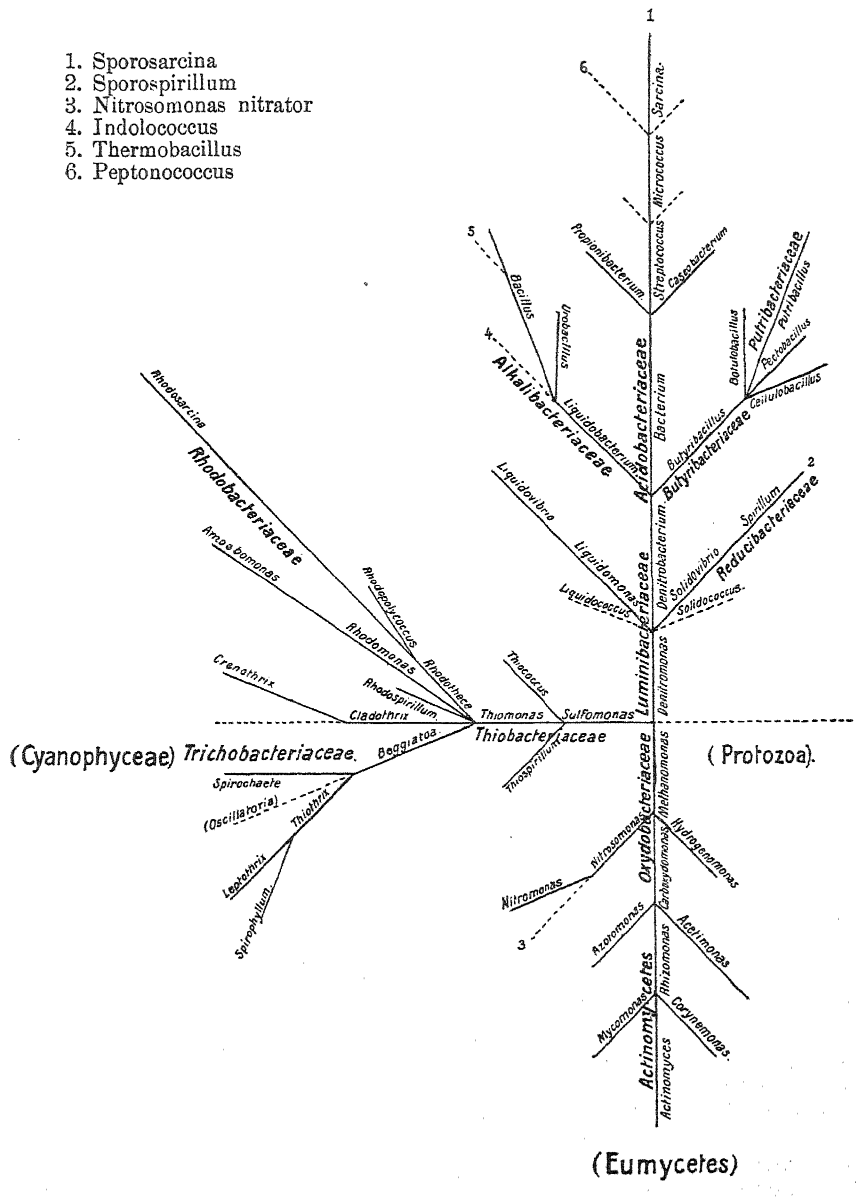
Die Entwickelung hier auf der Erde ist nicht in einer geraden Linie gegangen, sondern nur durch den ewigen Kreislauf vom Anorganischen durch die Pflanzen und Tiere zum Anorganischen zurück sind wir zu immer vollkommeneren Formen gelangt. Mittels der Energie des Sonnen-

1) Die Gattung Denitrobacterium paßt — weil sie den Uebergang zwischen den zwei Bakterienordnungen bildet — in keine der obigen vier Familien hinein.

2) Daß wir auf diesem Ast — als Zwischenglied in der Entwickelung — echte denitrifizierende Bakterien, wie z. B. den verzweigten Radiobacter antreffen, darf daher auch nicht verwundern.

3) Im Falle man die Grünalgen und damit auch die eigentlichen Pflanzen nicht von den blaugrünen Algen, sondern wie die Tiere von den Flagellaten ableiten will, so kann man sich — um das Gleichgewicht im Bilde nicht zu stören — die Entwickelung des Pflanzenreichs nach einer Richtung senkrecht auf die Ebene des Stammbaums denken.

lichtes bauen die Pflanzen ihre Bestandteile auf, aus welchen die Tiere wieder die kompliziertesten aller Verbindungen bilden, nämlich die Nerven- und Gehirnsubstanzen, die zur Erzeugung der höchsten Energieformen, welche die Intelligenz bedingen, notwendig sind. Damit diese Entwickelung sich ohne Grenze fortsetzen kann, muß selbstverständlich auch die begrenzte Menge Nährstoffe, die sich an der Erdoberfläche befinden, nicht für unabsehbare Zeiten gebunden, sondern baldmöglichst wieder in Zirkulation gebracht werden. Der Abbau ist daher nicht weniger wichtig als der Aufbau. Bei den Pflanzen, die ja fast immer autotroph sind, übertrifft der Aufbau den Abbau, während bei den Tieren, Pilzen und den meisten Bakterien das Umgekehrte der Fall ist.



Bezüglich der Tiere soll nur hervorgehoben werden, daß sie, außerdem daß sie die höchsten uns bekannten Entwickelungsstufen erreichen, von den Bakterien und Pilzen nicht in den Schatten gestellt werden dürfen, was die natürlichen Abbauprozesse betrifft. Bei Lebzeiten verbrennen sie nämlich große Mengen Kohlenhydrate und Fett, und in Metabiose mit Urobakterien bauen sie auch die Proteinstoffe zu den niedrigsten Stufen ab. Ferner sind sie nach dem Tode mittels allerlei Enzyme zur Selbstverdauung befähigt. Der Abbau der Tierleiber ist jedoch in erster Linie das Werk der Bakterien, und es ist interessant zu sehen, daß sich hieran die verschiedenen Bakteriengruppen annähernd in der ihrer Entwickelung entgegengesetzten Ordnung beteiligen. Während die Hydrolyse und Spaltung vorzugsweise durch die neueren Bakterien verursacht werden, so wird die vollständige Oxydation zu den Pflanzennährstoffen: Kohlensäure, Salpetersäure und Schwefelsäure, vornehmlich von den älteren Bakterien besorgt. Diese letzteren Bakterien bilden auch die durch andere Gärungsprozesse oder durch unvollständige Verbrennung entstandenen Gase: Wasserstoff, Kohlenwasserstoff und Kohlenoxyd derart um, daß sie wieder den Pflanzen zugute kommen können, und somit nicht im Kreislaufe verloren gehen. Beim Abbau des Pflanzengewebes sind die Pilze wenigstens ebenso tätig wie die Tiere und die Bakterien. Während die niedersten Pilze (Hefe- und Schimmelpilze) durchaus Säure besser vertragen als die Bakterien, und deshalb zur Zersetzung des Fruchtfleisches besonders befähigt sind, so zeichnen sich mehrere höhere Pilze dadurch aus, daß sie verholzte Zellen angreifen können, was keine Bakterien vermögen. Die Vorliebe der Bakterien für die Tiere und die der Pilze für die Pflanzen [1]) zeigen sich auch dadurch, daß die meisten tierischen Parasiten Bakterien, während die meisten Pflanzenparasiten Pilze sind. Da die Schimmelpilze freie organische Säuren besser als alle anderen Lebewesen ausnützen können, sind es hauptsächlich diese, welche in der Natur den Abbau des Fettes, das im tierischen Organismus nicht verbrannt wird, besorgen.

Nach Abschluß dieser Arbeit ist das Werk von Herrn und Frau Winslow, „The Systematic Relationships of the Coccaceae“ (John Wiley & Sons, New York) erschienen. Laut demselben zerfallen die Kokken in zwei Hauptgruppen: Meta- und Paracoccaceae. Die ersteren sind meistens Saprophyten, wachsen am besten unter aëroben Bedingungen und bilden demgemäß aus Kohlenhydraten wenig Säure. Sie sind gewöhnlich gramnegativ und erzeugen einen gelben oder roten Farbstoff.

Die letzteren dagegen sind meistens Parasiten, wachsen am besten unter anaëroben Bedingungen und bilden demgemäß aus Kohlenhydraten viel Säure. Sie sind gewöhnlich grampositiv und erzeugen mit Ausnahme der orangen Arten keinen Farbstoff.

Soweit decken sich diese zwei Hauptgruppen der Kokken vollständig mit den meinigen. Künftige Untersuchungen müssen zeigen, ob nun auch wirklich die Kokken der ersten Gruppe polare und die der zweiten diffuse Geißeln besitzen. Ein Widerspruch scheint bereits vorhanden zu sein, indem die meisten Sarcinen nach Winslow der ersten Gruppe angehören sollen. Indessen darf es, wie bereits bemerkt, nicht vergessen werden, daß die von Ellis untersuchten Sarcinen meistens mit ebenso großem Recht als lophotrich wie als peritrich betrachtet werden können.

1) Schon in ihrem ersten Ursprung sind die Pilze innig an die Pflanzen geknüpft, nämlich in der Eigenschaft als Stickstoffsammler.

Bakteriologische Untersuchung eines als „Trockentreber“ bezeichneten Futtermittels.

Von Dr. **Hugo Kühl**, Darmstadt.

Der hiesigen landwirtschaftlichen Versuchsstation wurde ein als „Trockentreber“ bezeichnetes Futtermittel zu Untersuchung auf Fäulnisbakterien eingereicht. Die Untersuchung wurde von mir in folgender Weise ausgeführt.

I. Zwei Erlenmeyer-Kolben wurden im Autoklaven mit 75 ccm Wasser sterilisiert, dann zu dem Wasser in dem einen Kolben so viel des Untersuchungsobjektes steril hinzugefügt, daß ein dicker Brei entstand. In den zweiten Kolben wurden so viel Trockentreber steril gebracht, daß die Menge Wasser gerade zur Durchfeuchtung ausreichte.

Beide Kolben wurden bei 30° C im Brutschrank belassen. In dem Kolben 1 trat nach 2 Tagen eine starke Gärung ein unter starkem Schäumen. Mit dieser gärenden Masse wurde Nährbouillon geimpft, die 2 Proz. Rohrzucker enthielt. Nach 2 Tagen bei 30° C im Brutschrank hatte sich eine starke Kahmhaut entwickelt. Von dieser impfte ich auf Gelatineplatten in der Weise, daß mit steriler Platinnadel eine Spur in 9 ccm sterilem Wasser verteilt wurde und dann 1 ccm dieser Bakterienlösung zur Impfung von Nährgelatine diente. Schon nach eintägigem Aufbewahren der Petri-Schalen im Brutschrank bei 30° C wurden runde weiße, glattrandige Kolonieen sichtbar. Die Bakterien einiger Kolonieen impfte ich wie oben auf neue Platten und untersuchte dann die Bakterien der einzelnen Kolonieen. Sie bildeten plumpe, einheitliche, sporentragende Stäbchen. Die Gelatine wurde ohne Fluoreszenz verflüssigt, Traubenzucker nicht vergoren.

Zur weiteren Prüfung wurde sterile Nährbouillon mit der Bakterie geimpft und dann bei 30° C im Brutschrank aufbewahrt. Es trat kein Fäulnisgeruch auf, dagegen ein feiner, an holländischen Käse erinnernder Duft.

Von dieser Kultur impfte ich nun weiter auf Nährbouillon, erhitzte die neugeimpften Kulturen im Wasserbad auf 65° C 20 Minuten und beließ die Kulturen dann im Brutschrank bei 30° C.

Nach 3 Tagen impfte ich mit ihnen Nährgelatine und goß wieder Platten. Abermals beobachtete ich nach 2 Tagen die glatten, weißen, runden Kolonieen. Bei der mikroskopischen Prüfung nahm ich die plumpen Stäbchen wieder wahr und zahlreiche freie Sporen. Jetzt impfte ich mit diesen Kolonieen wieder Nährbouillon und beobachtete nach einiger Zeit die Bakterien unter dem Mikroskop. Es erschienen im Gesichtsfeld zahlreiche plumpe Stäbchen und nur wenige kugelförmige Gebilde.

Mit den Kolonieen der zuletzt erwähnten Platten stellte ich gleichzeitig Stichkulturen her, um das Wachstum der Bakterien zu beobachten. Die Gelatine wurde in der Richtung des Stiches verflüssigt, an der Oberfläche bildete sich eine weiße Kolonie. Von dieser impfte ich wieder auf Nährbouillon, um die Kahmhautbildung zu beobachten, die durch Plattenkolonieen stets nach längerer Zeit hervorgerufen wurde. Diese blieb aus.

Wurde sterilisierte, mit Wasser durchfeuchtete Trebermasse mit den Kolonieen der Gelatineplatten geimpft, so entwickelte sich nach einiger Zeit wieder der feine Käsegeruch.

In dem Kolben 2, der das mit nur wenig Wasser durchfeuchtete Untersuchungsmaterial enthielt, trat nach wenigen Tagen eine starke Pilzflora auf.

Identifiziert wurden Aspergillus glaucus, Penicillium glaucum, Mucor mucedo, Mucor racemosus; reingezüchtet wurde außerdem ein Pilz vom Typus des Mucor. Die Köpfchen waren gelbbraun, das Mycel bestand aus zartwandigen Schläuchen. Unter dem Mikroskop beobachtete man an einigen Stellen die geplatzte Columella und die zahlreich austretenden runden Sporen.

Wurde letzterer Pilz auf durchfeuchtete, sterile Trockentreber übertragen, so begann er bald die Masse zu durchwuchern. Gleichzeitig entwickelte sich unter schwacher Gasentwicklung ein penetranter Modergeruch.

Die Zersetzung der Treber war folglich nicht durch Fäulnisbakterien, sondern durch Pilze verursacht.

Diese Tatsache konnte dadurch festgestellt werden, daß

II. Nährbouillon mit dem Untersuchungsmaterial direkt geimpft wurde. Kein Fäulnisgeruch, keine Ammoniak- und Schwefelwasserstoffbildung konnte nachgewiesen werden. Impfte ich von den Rohkulturen ab auf Nährbouillon, so trat wiederum der feine Käsegeruch und die Kahmhautbildung auf.

Zur Frage über die Zersetzung von salpetersauren Salzen durch Bakterien.

[Aus dem Laboratorium der bakteriologisch-agronomischen Station bei der Kaiserl. russischen Akklimatisationsgesellschaft für Pflanzen und Tiere in Moskau.]

2. Mitteilung.

Von **S. A. Sewerin** in Moskau.

In meiner ersten, in dieser Zeitschrift bereits im Jahre 1897 abgedruckten Arbeit „Zur Frage über die Zersetzung von salpetersauren Salzen durch Bakterien“ habe ich etliche Daten über das Denitrifikationsvermögen einiger von mir aus Pferdemist isolierter Bakterienreinkulturen mitgeteilt. Unter letzteren wurden besonders zwei höchst energische Denitrifikatoren beobachtet, der allgemein bekannte B. pyocyaneus und eine neue, von mir entdeckte Species, welche ich Vibrio denitrificans nannte. In vorliegender Abhandlung will ich noch einige Versuchsergebnisse mitteilen, welche das Denitrifikationsvermögen der beiden genannten Bakterien weiter charakterisieren. Dieses Material habe ich allmählich, sozusagen, vorübergehend bei anderen Arbeiten gesammelt, und das ist der Grund, weswegen diese Arbeit nach einem so langen Zeitraume der ersten Arbeit über dasselbe Thema folgt.

In meiner ersten Arbeit sind Angaben darüber angeführt, mit welcher Energie diese beiden Bakterienarten die Zersetzung der Nitrate und Nitrite des Kaliums und Natriums in Fleischpeptonbouillon aërob ausführen. Wir haben damals diesen Versuch in Matras nach Pasteur mit Kulturen ausgeführt, welche jedesmal je 20 ccm steriler Fleischpeptonbouillon mit mehr oder weniger Nitrat- oder Nitritzusatz enthielten, geimpft wurde stets mit einem Platinöhr 2-tägiger Bouillon-Nitratkultur des zu

prüfenden Mikroorganismus. Die betreffenden Kulturen kamen in den Thermostaten bei 30° C und innerhalb 10 Tagen wurde in demselben das Vorhandensein von Nitrat und Nitrit vermittelst der qualitativen Reaktionen mit Diphenylamin und Schwefelsäure und Jodzinkstärke bestimmt. Eine analoge Prüfung wurde auch jetzt ausgeführt, aber bloß anaërob. Der B. pyocyaneus ist bekanntermaßen ein fakultativer Anaërob, denselben Charakter hat, wie bereits aus meiner ersten Mitteilung bekannt ist, auch der Vibrio denitrificans gezeigt; die Sache ist nur die, daß der B. pyocyaneus anaërob in Fleischpeptonbouillon gut gedeiht sowohl mit, als ohne Nitrat, während der V. denitrificans in anaërober Bouillon ohne Nitrat gar nicht, mit Nitrat aber energisch wächst. Die anaëroben Versuche wurden in Pasteurschen anaëroben Röhrchen ausgeführt, von denen jedes 10 ccm Bouillon mit Nitrat- oder Nitritzusatz in bestimmter Menge enthielt, alles natürlich steril. Geimpft wurden diese Röhrchen mit einer geringen Menge der zu prüfenden Agarkultur, in einigen Tropfen sterilen Wassers bis zu leichter Opaleszenz des Wassers verrührt; nach der Impfung wurde aus den anaëroben Röhrchen mit der Heysslerschen Quecksilberpumpe die Luft bis zu 3—4 mm ausgepumpt, danach ein Strom gereinigten H oder CO_2 (die Versuche wurden mit beiden Gasen angestellt) hineingelassen, danach das Gas ausgepumpt, dann wieder hineingelassen und so einige Male wiederholt, damit die strengsten anaëroben Verhältnisse erzeugt wurden, schließlich wurden die mit Gas gefüllten Röhrchen über dem Feuer zugeschmolzen. Die so in den Röhrchen angefertigten anaëroben Kulturen kamen in den Thermostaten bei 30° C, und im Laufe von 10 Tagen wurden zu verschiedener Zeit die Röhrchen geöffnet und vermittelst der qualitativen Reaktionen mit Diphenylamin und H_2SO_4 und Jodzinkstärke das Vorhandensein oder die Abwesenheit von Nitrat oder Nitrit konstatiert.

Die erste Versuchsserie wurde in Wasserstoffatmosphäre angestellt. Bei Zusatz zur Bouillon von 3—6—7—8—9 usw. g $NaNO_3$ pro Liter erwies sich folgendes: Bei 3 g Gehalt pro Liter ist alles Nitrat vom V. denitrificans nach 2 Tagen zersetzt, in demselben Zeitraume waren auch Mengen von 6 g und 7 g pro Liter zersetzt, doch von 8 g an war das Nitrat nicht vollständig geschwunden innerhalb sämtlicher 10 Versuchstage. Beim B. pyocyaneus werden 3 g $NaNO_3$ pro Liter ebenfalls in 2 Tagen zersetzt, aber mit weiterer Zunahme des Nitrats wird die Frist der vollständigen Zersetzung desselben konsequent größer. So schwindet das Nitrat bei 6 g nach 3 Tagen, bei 7 g und 8 g nach 4 Tagen, bei 9 g nach 6 Tagen, bei 10—13 g nach 8 Tagen, und schließlich beträgt die Grenznorm des Nitrates für totale Zersetzung desselben im Laufe der ganzen 10-tägigen Periode 14 und 15 g pro Liter, doch sind diese Quantitäten nach 10 Tagen nicht stets zerstört, einzelne Röhrchen zeigen nach dieser Zeit noch das Vorhandensein von Nitrat. Was das Kaliumsalz anbelangt, so zersetzt V. denitrificans in 2 Tagen 6—8 g pro Liter, 9 g werden in 3 Tagen zerstört, aber bei 10 g Gehalt wird das Nitrat auch nach 10 Tagen nicht völlig zerstört. B. pyocyaneus zerstört 3 g KNO_3 auf 1 Liter nach 2 Tagen, Mengen von 6, 7, 8 g werden nach 3 Tagen, Mengen von 9, 10, 11 und 12 g in 4 oder 5 Tagen zerstört, schließlich wird das Nitrat bei einem Gehalt von 13, 14 und 15 g pro Liter in einzelnen Röhrchen nach 10 Tagen völlig zerstört, in anderen tritt dieses nicht ein; bei 16 und 17 g kam es zu völliger Zerstörung des Nitrats nicht.

Wenn wir nun diese Daten mit den analogen, in unserer ersten

Arbeit für Versuche unter aëroben Bedingungen angeführten vergleichen, so werden wir ersehen, daß die Luftabwesenheit die reduzierende Wirkung beider geprüften Mikroorganismen, und besonders merkbar für den B. pyocyaneus, erhöht. Unter aëroben Bedingungen konnten beide Bakterien in 10-tägiger Frist nicht mehr als 6 g $NaNO_3$ zerstören, während unter anaëroben Bedingungen V. denitrificans 7 g und B. pyocyaneus bis 15 g, d. h. letzterer mehrmals das Doppelte, zerstört. Vom Kalisalz zerstört der V. denitrificans unter aëroben Bedingungen in 10-tägiger Frist nicht mehr als 7 g pro Liter und der B. pyocyaneus nicht über 9 g, unter anaëroben Bedingungen zerstört ersterer bereits 9 g und der zweite bis 15 g.

Stellt man die Reduktionswirkung der Mikroorganismen einander gegenüber, so ist es nicht schwer, einzusehen, daß der B. pyocyaneus sich als energischerer Denitrifikator sowohl unter aëroben, als auch besonders unter anaëroben Bedingungen erweist. Kalisalpeter wird von beiden Mikroorganismen energischer sowohl unter aëroben als auch unter anaëroben Bedingungen zerstört, bloß für B. pyocyaneus gleicht sich unter anaëroben Bedingungen dieser Unterschied aus. In diesem Unterschiede zwischen den Salzen einen Zusammenhang mit dem ungleichen Gehalt von HNO_3 in denselben anzuerkennen, ist nicht zulässig, denn bei entsprechender Ausrechnung erhält man eine solche Proportion nicht; nur für V. denitrificans unter aëroben Bedingungen, wo er 6 g pro Liter $NaNO_3$ und 7 g pro Liter KNO_3 zerstörte, sind gleiche Mengen HNO_3 vorhanden, in sämtlichen übrigen Fällen gibt es eine solche Proportion nicht. Folglich kommt, wenn bei dieser Erscheinung das verschiedene Molekulargewicht der Salze auch eine gewisse Rolle spielt, hier vielleicht daneben die Einwirkung der alkalischen Metalle dieser Salze auf die Lebenstätigkeit der Bakterien und auch einige andere Umstände in Betracht.

Die Versuche mit Nitriten ergaben folgendes: Vor allem entwickelten sich die Mikroben in jeder Bouillon mit 3, 6 und 9 g $NaNO_2$ oder KNO_2 pro Liter und gaben überall reichliche Schaumbildung, nur verzögerte sich die Entwickelung der Bakterien mit der Zunahme des Nitritgehaltes in der Bouillon. Zieht man in Betracht, daß bei den früheren Versuchen unter aëroben Bedingungen der B. pyocyaneus in Bouillon mit einem Gehalt von 6 und 9 g Natron- oder Kalisalz gar nicht wachsen wollte, daß der V. denitrificans bei einem Gehalt von 6 g Natronsalz sich sehr schwach entwickelte und bei 9 g ebenfalls gar nicht wachsen wollte, so wird es klar sein, daß auch hier die anaëroben Bedingungen die Lebenstätigkeit beider Mikroorganismen heben. Das nämliche besagen auch die Zahlen der zerstörten Nitritmengen, sowie auch die Schnelligkeit ihrer Reduktion. Bei 3 g $NaNO_2$-Gehalt pro Liter zerstörte V. denitrificans das Nitrit in 3 Tagen, ebenso der B. pyocyaneus, während unter aëroben Bedingungen ersterer dieses Quantum erst nach 5 Tagen und letzterer es gar nicht total zerstören wollte; bei 6 g pro Liter vermochten es schon beide nicht, dieses Nitritquantum zu zerstören, aber sie entwickelten sich energisch in Bouillon, was, wie oben bemerkt, unter aëroben Bedingungen nicht der Fall war, dasselbe bezieht sich auch auf einen Gehalt von 9 g pro Liter.

Kalinitrit bei 3 g pro Liter zerstörte der V. denitrificans nach 2 Tagen und B. pyocyaneus nach 3 Tagen, unter aëroben Bedingungen kam es auch zu völliger Reduktion, doch später; bei 6 g brachte es aus unbekanntem Grunde der V. denitrificans nicht zu voller Reduktion,

obgleich unter aëroben Bedingungen das Nitrit total zerstört wurde. B. pyocyaneus zerstörte dieses Quantum auch nicht total, aber entwickelte sich energisch und zeigte starke Schaumbildung, was unter aëroben Bedingungen nicht der Fall war; bei 9 g schließlich entwickelt sich V. denitrificans unter aëroben sowohl wie auch unter anaëroben Bedingungen ohne totale Zerstörung des Nitrits, während B. pyocyaneus anaërob ausgezeichnet gedeiht ohne totale Nitritreduktion, unter aëroben Bedingungen aber gar nicht wachsen will.

Somit bestätigen auch diese Daten mit Nitrit, daß unter anaëroben Bedingungen der Reduktionsprozeß bei beiden Versuchsbakterien an Stärke gewinnt. Was den in der ersten Mitteilung angegebenen ungünstigeren Einfluß der Nitrite auf die Entwickelung des B. pyocyaneus gegenüber dem V. denitrificans anbelangt, so fällt hier unter anaëroben Bedingungen dieser Unterschied offenbar weg, doch kann man überhaupt sagen, daß die Nitrite in den genannten Mengen ein bedeutend weniger dankbares Material für die Reduktionstätigkeit beider Bakterien, als die Nitrate repräsentieren, und unter aëroben Bedingungen zeigt das Nitrit sogar sehr frappant seine ungünstige Einwirkung auf die Mikroorganismen. Was den oben konstatierten Unterschied zwischen den Natron- und Kalisalzen in dem Denitrifikationsprozeß anbelangt, so beobachteten wir in den letzten Versuchen mit Nitriten unter anaëroben Bedingungen den genannten Unterschied nicht, doch ist dieses wahrscheinlich ein Resultat unzureichender Detaillierung der Versuche; würde man in der Grenzzahl von 3 und 5 g Nitrit pro Liter noch Quantitäten von 4 und 5 g nehmen, so würde man wahrscheinlich auch hier beobachten, daß unter gleichen Bedingungen mehr Kali- als Natronsalz zerstört wird.

Was nun das Aussehen der gärenden Bouillon unter anaëroben Bedingungen anbelangt, so unterscheidet es sich wenig von dem bei aëroben Bedingungen — dieselbe Trübung und Schaumbildung. Es sei bloß bemerkt für B. pyocyaneus, daß die Bildung grünen Pigmentes in den anaëroben Röhrchen als Ausnahme vorkommt, während unter aëroben Bedingungen, wie in der ersten Arbeit mitgeteilt ist, ein dunkelgrünes Pigment in den Kulturen sich stets zeigte. Doch in der Mehrzahl der Fälle erhalten die anaëroben Kulturen des B. pyocyaneus bloß in den ersten Tagen eine schwache grüne Färbung, welche dann in eine deutlich gelbe übergeht, nicht selten sind die Fälle, wo die Kulturen gar keine Färbung haben, und als Ausnahme gibt es Fälle, wo die Kultur in den ersten Tagen eine intensiv grüne Färbung, welche danach in eine deutlich gelbe überging, annahm.

Somit bildet der B. pyocyaneus unter anaëroben Bedingungen vornehmlich gelbes Pigment. Im mikroskopischen Bilde äußert sich der Unterschied aërober und anaërober Kulturen des B. pyocyaneus darin, daß in den anaëroben Kulturen eine längere Stäbchenform erscheint, und für den V. denitrificans läßt sich das völlige Fehlen der Bildung verzweigter Formen konstatieren, welche wir unter aëroben Bedingungen beobachtet haben; unter anaëroben Bedingungen bildet V. denitrificans ausschließlich kurze, zweigliedrige Stäbchen, wie in den Kulturen auf festen Nährmedien.

Schließlich muß bezüglich der Bildung von HNO_2 bei dem Reduktionsprozesse der Nitrate folgendes gesagt werden: Für B. pyocyaneus ist stets in allen Zerstörungsstadien der Nitrate HNO_2 vorhanden, d. h. das nämliche, was auch unter aëroben Bedingungen beobachtet wurde; dementgegen gelang es, für V. denitrificans, wie aus unserer ersten

Publikation bekannt ist, in keinem Stadium des Denitrifikationsprozesses in den aëroben Versuchen die Anwesenheit von HNO_2 zu konstatieren. Eine Ausnahme bildete nur eine Beobachtung bei einem Versuche der ersten Mitteilung, wo die Bouillonkultur einer künstlichen Aëration ausgesetzt wurde; dort erschien HNO_2. Ferner beobachtete ich nochmals gelegentlich das Erscheinen von HNO_2, und zwar jetzt bei Anstellung der in vorliegender Publikation beschriebenen Versuche, als ich zur Kontrollprüfung der früheren Beobachtungen einige Kölbchen mit aërober Bouillon (ohne künstliche Aëration) aufstellte. Hier zeigte ebenfalls eine Kultur die Anwesenheit von HNO_2, doch war die Reaktion keine ausgesprochene. Eigentlich wird diese Abwesenheit von HNO_2 in der Mehrzahl der Fälle auch unter anaëroben Bedingungen beobachtet, doch bei weitem nicht immer. Wir haben gelegentlich nicht selten auch solche anaërobe Kulturen beobachtet, in denen die Anwesenheit von HNO_2 konstatiert wurde, freilich waren die qualitativen Reaktionen nicht so ausgesprochen, wie für den B. pyocyaneus.

Zum Schluß sei bemerkt, daß ich versucht habe, in Wasserstoffatmosphäre noch zwei Reinkulturen von den 9 Kulturen zu züchten, mit denen Denitrifikationsversuche in der ersten Mitteilung angeführt sind, und zwar mit No. 20 und No. 9, von denen No. 20 in 10-tägiger Frist in aërober Bouillon 1 g Nitrit pro Liter und No. 9 2 g pro Liter zerstörte. Unter anaëroben Bedingungen erwies es sich, daß No. 20 weder in einfacher, noch in Nitratbouillon wächst, während No. 9 in Nitratbouillon schwaches Wachstum mit HNO_2-Bildung aufweist.

Ich gehe nun zu analogen Versuchen über, in denen B. pyocyaneus und V. denitrificans nicht in H-, sondern in CO_2-Atmosphäre gezüchtet wurden. Bei 3 g $NaNO_3$-Gehalt pro Liter wird das Nitrat total in 2 Tagen zerstört, doch 6 g werden auch innerhalb sämtlicher 10 Tage nicht zerstört. B. pyocyaneus zerstört 3 g Natronsalpeter ebenfalls in 2 Tagen, 6 g werden in 3 Tagen, 9 g in 8 Tagen zerstört, doch größere Quantitäten werden in 10-tägiger Frist nicht mehr zerstört. Kalisalpeter zerstörte V. denitrificans 3 g pro Liter in 2 Tagen, 6 g in 3 Tagen, doch bereits 7 g und darüber ist er sogar im Laufe sämtlicher 10 Tage nicht imstande, zu zerstören; B. pyocyaneus zerstört 3 und 6 g in 3 Tagen, 9 g in 5 Tagen, 12 g in 8 Tagen. Die anaëroben Röhrchen mit 13 und 14 g wurden erst nach 10 Tagen geöffnet, und in denselben erwies sich das Nitrat auch total zerstört; mit größeren Nitratmengen wurden keine Versuche angestellt. Was das Nitrit anbelangt, so wollten beide Bakterien im Natronsalz sowohl wie im Kalisalz bereits bei einem Gehalt von 3 g pro Liter Bouillon gar nicht mehr wachsen, die Bouillon blieb klar; doch genügte es, die anaëroben Röhrchen zu öffnen, um Luft einströmen zu lassen, natürlich unter Kautelen vor Verunreinigung, damit beide Mikroorganismen anfingen, sich zu entwickeln und die übliche Schaumbildung zu geben.

Vergleicht man nun die Ergebnisse dieser Versuche mit den früher angegebenen, so wird es nicht schwer sein, einzusehen, um wie viel die CO_2-Atmosphäre für die Reduktionstätigkeit der Versuchsbakterien gegenüber der H-Atmosphäre wenig günstig ist; dieselbe ist fast in sämtlichen Fällen schwächer im Vergleich zur Anaërobie in H-Atmosphäre, und für den V. denitrificans ist sie sogar schwächer, als bei Kultivierung unter aëroben Bedingungen. Kohlensäure schwächt so sehr die Lebenstätigkeit der Bakterien, daß sie in Nitritbouillonagar gar nicht wachsen wollen. Daß die CO_2-Atmosphäre weniger günstig einwirken wird, als

die H-Atmosphäre, davon konnte ich mich ganz am Anfang der Versuche überzeugen, als einige anaërobe Kulturen beider Mikroorganismen in Fleischpeptonbouillon ohne Nitratzusatz zubereitet wurden. V. denitrificans wollte in solcher Bouillon nicht wachsen, ebenso wie in H-Atmosphäre, doch daselbst wollte auch B. pyocyaneus nicht wachsen, während er in H-Atmosphäre in Bouillon ohne Nitratzusatz sich energisch entwickelt. Eine derartig ungünstige Wirkung der Kohlensäure ist ein weiterer Beweis dafür, daß dieses Gas für die Lebenstätigkeit der Bakterien überhaupt durchaus nicht indifferent ist, worauf bereits früher verschiedene Forscher hingewiesen haben.

Was den früher von uns in der Energie des Denitrifikationsvermögens zwischen den Bakterien konstatierten Unterschied und das ungleiche Verhalten zu dem Denitrifikationsprozeß der Kali- und Natronsalze anbelangt, so bestätigen die letzten Versuche die früher gemachten Schlußfolgerungen, d. h. auch in CO_2-Atmosphäre erweist sich der B. pyocyaneus als energischerer Denitrifikator, als der V. denitrificans; die Nitrite repräsentieren im Vergleich zu den Nitraten ein weniger dankbares Material für die Reduktionstätigkeit der Bakterien, und die Kalisalze werden ceteris paribus energischer zerstört, als die Natronsalze.

Das Aussehen der flüssigen Kulturen unterscheidet sich wenig von dem für die oben geschilderten Versuche Gesagten; wo Nitratzerstörung war, gab es auch reichliche Schaumbildung; B. pyocyaneus bildete kein grünes Pigment. Das mikroskopische Bild ist für B. pyocyaneus das gleiche, wie das früher beschriebene, beim V. denitrificans erscheinen in CO_2-Atmosphäre mehr gebogene Formen, meistens in Kommaform, selten spirillenförmig; verzweigte Formen gibt es fast nicht. HNO_2 produzierte V. denitrificans, wie auch früher, nirgends, B. pyocyaneus zeigte HNO_2-Bildung bei den Versuchen mit Kalinitrat, doch mit Natronnitrat, so sonderbar es auch sein mag, konnte man es nirgends konstatieren.

Unter anderem will ich hier auf das verschiedene Verhalten beider Versuchsbakterien zu den anderen flüssigen Nährmedien aufmerksam machen. Wenn diese Bakterien in Fleischpeptonbouillon gut gedeihen, so verhalten sie sich bei weitem nicht auf gleiche Weise zu wässerigen Substraten, welche die einen oder anderen streng bestimmten mineralischen und organischen Substanzen enthalten. Ich habe 6 diverse, von verschiedenen Forschern vornehmlich beim Studium der Denitrifikation benutzte Zusammensetzungen geprüft und in keiner von diesen entwickelte sich V. denitrificans, während B. pyocyaneus fast in allen mehr oder weniger und in einzelnen sehr energisch sich entwickelte. Länger habe ich mich beim Suchen eines passenden wässerigen Nährmediums nicht aufgehalten, und vermerke darum obiges nur vorübergehend.

Vorübergehend will ich auch an der für mich unverständlichen Behauptung Greig Smiths (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VIII. p. 378 „Notes on Vibrio denitrificans Severin“) stehen bleiben, daß der von mir entdeckte V. denitrificans kein Vibrio sei, sondern ein mit Rhizobium leguminosarum morphologisch identischer Organismus. Aus der Smithschen Bemerkung ist es leider nicht ersichtlich, ob er eine Kultur des Vibrio denitrificans in den Händen hatte, oder ob das auf Grund der in meiner ersten Mitteilung angeführten Daten ausgesprochen wird. Soweit die Morphologie in Betracht kommt, repräsentiert das Rhizobium keinen besonderen morphologischen Typus, in welchen

man irgend welche andere Bakterienspecies einreihen könnte. Eins von beiden, entweder ist mein Mikroorganismus ein Bakterium, angesichts seines Wachstums auf festem Nährboden, oder ein Vibrio, sobald derselbe in Bouillon für Vibrio charakteristische Formen bildet; ich habe vorgezogen, seine Morphologie nach der Bouillonkultur zu charakterisieren. Basiert man die genannte Identifizierung auf das Vermögen beider Mikroorganismen, verzweigte Formen zu erzeugen, so ist dafür ebensoviel Grund vorhanden, wie für Identifizierung des V. denitrificans mit sämtlichen anderen, verzweigte Formen bildenden Mikroorganismen, wie der B. tuberculosis, B. diphtheriae, V. rugula usw. Stützt man sich auf physiologische Daten, so kann hier von einer Identifizierung des V. denitrificans und R. leguminosarum nicht die Rede sein, denn ihre physiologischen Funktionen sind total verschieden, verschieden sind sogar die Nährmedien, auf denen sie wachsen können.

Noch einige Worte über das Erscheinen von HNO_2 während der Reduktion des Nitrats. Beijerinck und einige andere Forscher behaupten, daß bei dem Denitrifikationsprozeß als erste Stufe obligatorisch HNO_2-Bildung auftritt, und wenn wir für einzelne Denitrifikatoren vermittelst einer Reaktion diese Zwischenstufe nicht auffangen können, so nur aus dem Grunde, weil das in jedem Moment gebildete Nitrit sofort weiter reduziert wird. In einem Referate der Itersonschen Arbeit (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. IX. 1902) findet Beijerinck bei letzterem eine Bestätigung seiner Ansicht darin, daß Iterson bei Benutzung einer 0,1-proz. Nitratlösung keine Nitritbildung beobachtet hat; es genügte aber, eine 4—5-proz. Lösung zu nehmen, damit stets eine starke Nitritreaktion auftrat. Mit anderen Worten, es genügt, einem derartigen Denitrifikator ein die Grenze seines totalen Zerstörungsvermögens übersteigendes Nitratquantum zu geben, damit wir ihn unbedingt in einem Stadium der HNO_2-Bildung antreffen, offenbar aus den letzten Molekülen der in Reduktion begriffenen HNO_3, wo HNO_2 noch keine Zeit hatte, sich weiter zu reduzieren, oder aber dem Mikroorganismus die Energie, die Reduktion weiterzuführen, nicht ausgereicht hat. Mit letzterem kann man sich wohl kaum einverstanden erklären. Wenigstens wird dieses bei dem V. denitrificans unter aëroben Bedingungen nicht beobachtet; dieser bildet HNO_2 weder bei den Nitratmengen, welche er total bis zu freiem N zerstört, noch auch bei diese Grenze übersteigenden Mengen. In H-Atmosphäre zeigt er bereits hin und wieder, wie oben erwähnt, die Reaktion auf HNO_2, doch unabhängig von dem Nitratquantum, sondern gleichsam zufällig. Doch am interessantesten ist es, daß der B. pyocyaneus, welcher bei der Reduktion die Reaktion auf HNO_2 zeigt (unter aëroben Bedingungen und in H-Atmosphäre), in CO_2-Atmosphäre mit Natronnitrat, so sonderbar das auch sein mag, nirgends Nitrit bildete, mit Kalinitrat aber stets die Reaktion zeigte. Offenbar existiert hier eine kompliziertere Wechselbeziehung, und vermittelst einer Vergrößerung des Nitratquantums läßt sich nicht immer das Stadium der HNO_2-Bildung hervorrufen. Freilich habe ich die Versuchsmengen des Nitrats nicht, wie Iterson, in so scharfen Grenzen von 0,1 und 4—5 Proz. genommen, sondern bin der Ansicht, daß bei derartiger Konzentration des Nitrats schon das Wesen des Prozesses selbst sich stark ändern wird; falls die einen oder anderen Denitrifikatoren sich entwickeln werden, so kann es zu einer Reduktion bis zu freiem N gar nicht kommen, und alles wird sich auf HNO_2-

Bildung beschränken; doch dieses wird offenbar eine anderweitige Erscheinung sein. Man kann annehmen, daß bei den Mikroorganismen, welche bei tiefer Reduktion des Nitrats Nitritreaktion aufweisen, die Nitritbildung schneller vor sich geht, als der sekundäre Prozeß der Bildung freien Ns aus dem Nitrit, und daß bei den Denitrifikatoren der anderen Gruppe, welche keine Reaktion auf HNO_2 zeigen, der sekundäre Prozeß wenigstens ebenso energisch ist, wie der Prozeß der HNO_2-Bildung, abgesehen davon, daß bei diesen beiden Denitrifikatorengruppen der Chemismus des Prozesses an und für sich vielleicht etwas verschiedene Wege einschlägt. Die Lösung dieser Frage wird noch mehr kompliziert durch die Einwirkung äußerer Faktoren auf den Hergang des Denitrifikationsprozesses, was HNO_2-Bildung anbelangt, wie z. B. Abhängigkeit von der Zusammensetzung des Nährsubstrates, von der Temperatur usw. Eine derartige Einwirkung ist bereits mehrfach von den Forschern und im einzelnen auch bei unseren Beobachtungen oben konstatiert worden, und zwar die Einwirkung in diesem Sinne seitens der Natur des alkalischen Metalles des Nitrates und der chemischen Natur des Gases, in welchem der Denitrifikationsprozeß sich abspielt.

Zu demjenigen Teile unserer Versuche zurückkehrend, welche die Klärung des Verhaltens des V. denitrificans und B. pyocyaneus zum Sauerstoff der Luft zum Zweck haben, muß man sagen, daß ihre physiologische Funktion, Nitrate bis zu freiem N zu zerstören, zweifellos einen anaëroben Charakter trägt. Völlige Abwesenheit des Luftsauerstoffes mit Ersatz desselben durch Wasserstoff erhöht ihre Reduktionstätigkeit bedeutend. Dieselbe Schlußfolgerung über den mehr oder weniger anaëroben Charakter hat auch die Mehrzahl der anderen Forscher gemacht, welche mit Nitrate bis zu freiem N zerstörenden Denitrifikatoren gearbeitet haben. Mehr oder weniger Luftabschluß erhöht die Reduktion und bei völliger Abwesenheit von O entwickeln sich sogar nicht alle Denitrifikatoren. So zeigten bei Stutzer und Burri unter diesen Verhältnissen B. coli + V. denitrificans keine N-Bildung, B. vulpinus entwickelte sich bei Iterson ohne O in Nitratlösung gar nicht. Auf einem besonderen Standpunkt in dieser Frage steht offenbar Stoklasa, welcher seine Ansicht darüber nicht klar formuliert, doch aus fragmentarischen Daten seiner Arbeiten geht hervor, daß reichlicher Luftzutritt nach seiner Ansicht, im Gegensatz zu sämtlichen anderen Forschern, nicht schwächend auf den Denitrifikationsprozeß einwirkt, und damit fällt offenbar eine Charakteristik desselben als eines anaëroben Prozesses weg. Ferner konstatiert Baur für seine zwei Denitrifikatoren B. actinopelte und B. lobatum, daß der O-Zutritt den Denitrifikationsprozeß beschleunigt, doch soweit ich aus dem Referat seiner Arbeit im Centralbl. f. Bakt. Bd. VIII. No. 17 verstehen konnte, gilt dieses im Vergleich mit anaëroben Bedingungen, wird aber, wie ich meinerseits hinzufügen will, die aërobe Kultur wirklich reichlich aëriert, so kann dies auf den Denitrifikationsprozeß dieser Mikroorganismen einen hemmenden Einfluß ausüben. Jedoch sind die uns interessierenden Denitrifikatoren, abgesehen von ihrer Denitrifikationsfunktion, in der Mehrzahl echte Aëroben, gleich jedem nicht denitrifizierenden Aëroben. Buhlert und Fiekendey (Centralbl. f. Bakt. Bd. XVI. No. 10/13) konstatieren bei ihren Versuchen, daß durch Bearbeitung gut durchlüftete Erdböden im Nährsubstrat eine energischere Denitrifikation erzeugen, als Erdböden, welche bisher brach lagen. Daraus sagen sie, darf man natürlich nicht den Schluß ziehen, daß in einem bearbeiteten Felde der Verlust von

HNO_3 größer sein muß, als in einem nicht bearbeiteten; dieses bedeutet bloß, daß bei Durchlüftung des Erdbodens sich diejenigen aëroben Mikroorganismen entwickeln, welche bei veränderten Bedingungen, d. h. bei beschränktem Luftzutritt, ihren Bedarf an O auf Kosten des HNO_3-Sauerstoffes decken können. Derartig ist die aërobe Natur der Denitrifikatoren im Erdboden, abgesehen vom Denitrifikationsprozeß. Von derselben aëroben Natur sprechen auch sämtliche Charakteristiken der bisher beschriebenen Denitrifikatoren. Stoklasa sagt geradezu (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVII. No. 1/2), daß die Nitrate bis zu freiem N zerstörenden Mikroorganismen — wirkliche Aëroben sind, und daß ihre Entwickelung ohne Sauerstoff, in nitratlosem Substrat, unmöglich ist. (Jedoch ist diese Behauptung nicht ohne Ausnahmen, B. pyocyaneus ist bekanntermaßen ein fakultativer Aërob; in meinen Versuchen entwickelte er sich ausgezeichnet in Fleischpeptonbouillon bei völliger Abwesenheit von O und HNO_3, B. actinopelte Baur kann anaërob ohne Nitrat wachsen, obgleich besser mit, als ohne Nitrat.) Egunoff konstatiert für seinen Denitrifikator, dem er keinen Namen gab, unter anaëroben Bedingungen energische Nitratzerstörung mit Ausscheidung freien Ns, doch nebenbei artet unter solchen anaëroben Bedingungen der Mikroorganismus offenbar aus, er färbt sich schlecht, es erscheinen Körnchen, das Wachstum wird gehemmt usw., also auch hier offenbart sich seine aërobe Natur. Das ist der Grund, weswegen wir infolge der aëroben Natur der Denitrifikatoren nicht selten Beobachtungen begegnen, bei denen bei völliger Anaërobiose einzelne Denitrifikatoren entweder nicht wachsen wollen, oder der von ihnen erzeugte Prozeß schwächer ist, als bei einigem Luftzutritt, doch dadurch wird die anaërobe Natur des Denitrifikationsprozesses nicht aufgehoben, es bedarf bloß für seine aëroben Erreger eines gewissen Luftquantums, wenigstens in der ersten Zeit, für den Beginn des Prozesses.

Mit einem Wort, auf Grund des bisher angehäuften Materiales über die Denitrifikation kann man annehmen, daß die Nitrate bis zu freiem N zerstörenden Denitrifikatoren in bedeutender Mehrzahl ihrer Natur nach Aëroben sind, der von ihnen erregte Denitrifikationsprozeß aber ein mehr oder weniger anaërober Prozeß ist; eine Hemmung oder Aufhebung desselben bei reichlichem Luftzutritt entsprechen vollkommen seinem Wesen. Es ist leicht möglich, daß dieser Prozeß, als anaërobe, der aëroben Natur der Denitrifikatoren zuwider ist, dieser Prozeß ist ein gezwungener, unter dem Einfluß eines gewissen Sauerstoffmangels, und deswegen muß er für jene gewissermaßen ein künstlicher, physiologisch unnormaler Prozeß sein. Im Erdboden muß, bei guter Aëration durch Bearbeitung, eine energische Vermehrung der Denitrifikatoren, aber eine schwache Bewährung ihrer Denitrifikationsfunktion vor sich gehen, und umgekehrt muß in einem festen Erdboden mit schwacher Durchlüftung eine geschwächte Vermehrung der Denitrifikatoren, aber eine Steigerung ihrer Denitrifikationstätigkeit bemerkt werden.

Was den ungünstigen Einfluß von CO_2 auf die Denitrifikatoren anlangt, so stimmen meine Befunde nicht mit den Beobachtungen, z. B. Pfeiffers und Lemmermanns überein; bei diesen wollten die Denitrifikatoren in CO_2-Atmosphäre gar nicht wachsen; bei mir wird nur eine Herabsetzung der Reduktionstätigkeit konstatiert, welche an und für sich auch in CO_2-Atmosphäre immer noch sehr energisch bleibt, und für B. pyocyaneus mit Kalisalz ist sie nicht geringer, als in H Atmosphäre. Da in der Erdbodenatmosphäre hauptsächlich eine Anhäufung

von CO_2 vor sich geht, so könnte man annehmen, daß dieser Umstend den Denitrifikationsprozeß bedeutend hemmen muß, doch kann man in der Tat wohl kaum im Boden derartige, wenn auch winzig kleine, längere Zeit aus CO_2 allein bestehende Sphären voraussetzen. Diese müssen unbedingt infolge stetiger Diffusionsströme im Bereiche der Bodenpartikel ihren Gasbestand wechseln, indem sie teils durch Luft, teils durch andere an Ort und Stelle im Boden sich bildende Gase verdünnt werden, und in einer Atmosphäre, welche nicht allein aus reiner Kohlensäure besteht, würden die von Pfeiffer und Lemmermann geprüften Denitrifikatoren wahrscheinlich ihre denitrifikatorische Tätigkeit geäußert haben. Wenn andererseits sogar derartige reine CO_2-Sphären im Boden existieren können, so schließt dieses, wie aus den von mir beschriebenen Denitrifikatoren ersichtlich ist, durchaus noch nicht das Auftreten einer energischen Denitrifikation in denselben aus.

Derartig sind meine Daten über das Denitrifikationsvermögen des B. pyocyaneus und V. denitrificans bei Kultivierung derselben in Fleischpeptonbouillon mit Nitrat, sowohl unter aëroben, wie auch anaëroben Bedingungen.

Des weiteren befaßte ich mich mit dem Studium ihres Denitrifikationsvermögens in verschiedenen Erdböden, wozu für die erste Versuchsreihe von mir vier Bodentypen gewählt wurden, und zwar Torfboden, Rasenboden, Blätterboden und Gemüsegartenboden; die Erdböden wurden beim Gärtner geholt. Die Versuche wurden so angestellt, daß zu gleicher Zeit zwei Fragen beantwortet wurden — ob die betreffenden Mikroben in diesen Erdböden sich entwickeln, und wenn ja, ob sie in denselben ein Denitrifikationsvermögen entfalten. Um nicht diese Arbeit durch wenig interessante Einzelheiten in die Länge zu ziehen, will ich sogleich das gemeinsame Resultat der ersten vier Versuche (bei jedem waren sämtliche vier Erdböden beteiligt) darlegen und kurz die Anordnung der Versuche angeben. Die Erdböden wurden für jeden Versuch in einer Quantität von 20 g in Erlenmeyerschen Kölbchen mit mehr oder weniger Wasserzusatz genommen, doch so, daß die Böden stark feucht waren. Bei jedem Versuche erhielt die Hälfte der Versuchskölbchen in dem zugesetzten Wasser je 0,045 Proz. $NaNO_3$, nach dem Gewicht des Erdbodens berechnet, die andere Hälfte erhielt kein Nitrat mit derjenigen Quantität desselben verbleibend, welche der Erdboden an und für sich noch vor dem Versuche enthalten hat. Unter anderem enthielt ein solches natürliches Nitrat bloß der Gemüsegarten — und Blätterboden, der Torfboden hatte es nicht, in dem Rasenboden zeigten einige Erdportionen die Reaktion, andere nicht. Sämtliche derartig zubereitete Erdböden wurden im Autoklaven bei 2 Atmosphären $^1/_2$ Stunde lang sterilisiert. Nach der Sterilisation wurde die Hälfte der Versuchskölbchen mit Nitratzusatz sowohl als auch ohne ihn mit B. pyocyaneus, die andere Hälfte mit V. denitrificans geimpft. Die Impfungen wurden mit frischer, zweitägiger Agarkultur durch einen Stich mit der Platinnadel in das Zentrum der Erdportion in dem Kölbchen ausgeführt. Sämtliche Kölbchen wurden sodann in den Thermostaten bei 30° C gestellt. Die Prüfung des Erdbodens geschah in zwei Terminen, nach 15 und 30 Tagen, dementsprechend in dem Versuche je zwei Bodenportionen vorhanden waren. Außer den angegebenen Versuchskölbchen gab es in jedem Versuche noch Kontrollkölbchen, z. B., steriler Boden ohne Impfung, nicht steriler, mit Reinkultur geimpfter und nicht geimpfter usw., meistens zwecks eines Vergleiches der Intensität der

qualitativen Reaktionen. Die Entwickelung des Mikroben in dem betreffenden Boden wurde durch Aussaat auf Platten konstatiert, wozu jedesmal ein Platinöhr Boden aus dem peripherischen Teil desselben, hart an der Wand des Kölbchens, so weit als möglich von dem Orte der ersten Impfung genommen wurde. Was die Konstatierung des Denitrifikationsprozesses in dem Versuchsboden anbelangt, so wurden positive Beobachtungen bloß in dem Falle gemacht, wo alles Nitrat im Boden reduziert war, denn die Bestimmung geschah nur vermittels der qualitativen Reaktion mit Diphenylamin und H_2SO_4.

Das allgemeine Resultat für sämtliche 4 Versuche war, wie folgt: Im Torf- und Rasenboden entwickelte sich weder der eine, noch der andere Mikrobe; B. pyocyaneus entwickelte sich nur ausnahmsweise in diesen Böden, in je einem Falle für jeden von diesen Böden; im Blätterboden entwickelte sich V. denitrificans auch nicht, während B. pyocyaneus wohl sich entwickelte; im Gemüsegartenboden entwickelten sich beide Mikroben. Unter anderem sei für letzteren Boden bemerkt, daß ein aus dem mit B. pyocyaneus geimpften Boden entnommenes Platinöhr Erde auf der Platte eine kolossale Anzahl von Kolonieen ergibt — die Platte ist notorisch besät mit denselben — während V. denitrificans in solchen Fällen eine relativ geringfügige Anzahl von Kolonieen bildet. Was die Frage anlangt, in welchen Versuchsportionen totale Reduzierung der Nitrate eintrat, und in welchen nicht, so wurde in sämtlichen Versuchen mit Gemüsegartenerde niemals totaler Schwund der Nitrate beobachtet. In mit V. denitrificans geimpftem Blätterboden wurde ebenfalls kein Verschwinden der Nitrate beobachtet, und das ist verständlich, denn wir haben oben erwähnt, daß dieser Mikrobe im Blätterboden sich sogar nicht entwickelt, doch B. pyocyaneus brachte es in den Portionen ohne Nitratzusatz zu völligem Schwund der darin enthaltenen natürlichen Nitrate, in den Portionen mit Nitratzusatz gab es keine völlige Reduktion derselben. Wir wollen hier erwähnen, daß die Verwendung der qualitativen Reaktion mit Diphenylamin für den Rasen- und besonders Torfboden (die Reaktionen wurden in Wasserauszügen der Erdböden ausgeführt) häufig sehr undeutliche, stutzig machende Angaben liefert; dort, wo zweifellos Nitrat vorhanden sein muß, weil es vor dem Versuch zugesetzt wurde und von den geprüften Mikroben nicht zerstört werden konnte, weil sie in diesen Böden sich nicht entwickelten, erhält man bisweilen, unbekannt warum, keine Nitratreaktion, oder man erhält eine sehr schwache, rapid verschwindende Blaufärbung, welche die Vorstellung von Nitratspuren erweckt, schließlich erhält man eine Reihe widersprechender Resultate, und vor fehlerhaften Schlüssen bewahren nur teilweise die Befunde der bakteriologischen Analyse.

Die folgenden zwei Versuche wurden mit dem Blätterboden allein angestellt; der erste Versuch mit B. pyocyaneus, der zweite mit V. denitrificans, wobei dem Boden bestimmte Mengen Pferdekot (in allen Versuchen wurde ganz frischer genommen), Stroh und Stärke zugesetzt wurden, um erstens den V. denitrificans überhaupt zu veranlassen, sich im Blätterboden zu entwickeln, und zweitens, um den Denitrifikationsprozeß im Boden, falls er dort vor sich gehen sollte, zu verstärken. In dem ersten Versuch wurden 24 Kölbchen mit je 20 g Erde genommen, davon 12 mit dem in den vorigen Versuchen benutzten Blätterboden und 12 Kölbchen mit neuem, ebenfalls vom Gärtner geholten Blätterboden; die ersten 12 Kölbchen dienten zur Prüfung nach

30 Tagen, die anderen nach 15 Tagen. Von jeder, aus 12 Kölbchen bestehenden Gruppe blieben 6 mit ihrem natürlichen Nitrat, während 6 andere je 0,045 Proz. $NaNO_3$ erhielten, ferner erhielt in jeder Gruppe eine von sechs 2 Proz. Kartoffelstärke, die andere 2 Proz. Kot, die dritte 8 Proz. Kot, die vierte 2 Proz. Stroh, die fünfte 8 Proz. Stroh und die sechste gar nichts. Pferdekot wurde ganz frisch genommen und fein zerfasert, Stroh fein zerschnitten, jede zuzusetzende Substanz wurde sorgfältig mit der Erde durchgemischt; außerdem wurden Kontrollkölbchen aufgestellt — ein nicht sterilisiertes ohne jeglichen Zusatz, aber mit den geprüften Kulturen geimpftes und ein sterilisiertes, aber nicht geimpftes. Sämtliche Portionen erhielten je 10 ccm Wasser, die mit 8 Proz. Stroh je 15 ccm. Der Boden war allenthalben stark feucht. Sämtliche Kölbchen, mit Ausnahme einiger Kontrollkölbchen, wurden bei 2 Atmosphären im Autoklaven sterilisiert. Nach der Sterilisation zeigten die speziellen Kontrollkölbchen überall die Anwesenheit von Nitraten; alle Kölbchen kamen in den Thermostaten bei 30° C, geimpft wurde, wie immer, durch Nadelstich in das Zentrum des Kölbchens, nach 18 und 30 Tagen — qualitative Reaktion auf Nitrat und Aussaaten.

Das Resultat des Versuches war folgendes: Bei Prüfung nach 15 Tagen, d. h. mit dem neuen Blätterboden, wrren die Nitrate allenthalben zerstört und sämtliche Portionen zeigten eine ungeheuere Anzahl von Kolonieen auf den Platten, nur das Kontrollkölbchen mit steriler Erde ohne Impfung zeigte völlige Abwesenheit von Mikroben und Anwesenheit von Nitrat. Ein ganz unerwartetes Resultat wurde mit dem vorigen Boden bei Prüfung nach 30 Tagen erzielt. Sämtliche Portionen ohne Ausnahme gaben Nitratreaktion, und alle erwiesen sich als steril, keine einzige Aussaat gab eine B. pyocyaneus-Kolonie. Angesichts des so sonderbaren Resultates, welches den Daten der früheren Versuche mit demselben Blätterboden kraß widerspricht, muß man annehmen, daß sich hier irgend eine Fehlerquelle eingeschlichen hat, so daß es besser sein wird, dieses Resultat nicht zu beachten.

Der zweite Versuch zur Prüfung des V. denitrificans wurde mit demselben neuen Blätterboden ausgeführt, welcher an dem vorhergehenden Versuch beteiligt war; für den 15-tägigen Termin wurde der Versuch mit 12 Erdportionen ganz ebenso angestellt, wie für B. pyocyaneus, für den 30-tägigen Termin aber wurden bloß 3 Portionen genommen, davon eine mit 2 Proz. Stärke, die andere mit 8 Proz. Kot und die dritte mit 8 Proz. Stroh, alle drei mit Nitratzusatz; außerdem wurden zwei Kontrollportionen ohne Zusatz von Nitrat und anderer Substanzen genommen, von diesen war eine nicht sterilisiert und mit V. denitrificans geimpft, die andere sterilisiert, aber nicht geimpft. Alles übrige wurde ebenso gemacht, wie in den vorhergehenden Versuchen. Das Resultat des Versuches war folgendes: Von sämtlichen Portionen, mögen sie 15 oder 30 Tage gestanden haben, gab es keine einzige mit völlig zerstörtem Nitrat, in sämtlichen Portionen kam es zu energischer Entwickelung des Mikroben, mit Ausnahme bloß zweier, und zwar derjenigen, wo kein Stroh, Kot oder Stärke zugesetzt war; in diesen Portionen entwickelte sich zwar der Mikrobe zum Unterschied von den Befunden der früheren Versuche mit dem Blätterboden, doch war diese Entwickelung viel schwächer. Ueberhaupt muß wiederholt werden, daß im Vergleich zu dem B. pyocyaneus der V. denitrificans sich in sämtlichen Fällen bedeutend schwächer entwickelt. Der folgende Versuch wurde mit Gemüsegartenerde angestellt, mit der nämlichen, welche

an den früheren Versuchen beteiligt war. Der Versuch wurde ganz analog den vorhergehenden angestellt, bloß verblieben sämtliche Versuchsportionen mit ihrem natürlichen Nitratgehalt ohne künstlichen Zusatz desselben, der Versuch wurde parallel mit beiden Mikroben angestellt. Das Resultat des Versuches war, wie folgt: Von allen Versuchsportionen war das Nitrat total reduziert bloß in zweien, und zwar in denjenigen, welche mit B. pyocyaneus geimpft waren und je 8 Proz. Kot enthielten bei Beobachtung nach 15 und 30 Tagen; eine sehr schwache Nitratreaktion zeigte die Portion mit 8 Proz. Stroh und noch viel schwächer die Portion mit 2 Proz. Kot, beide geimpft mit B. pyocyaneus. Die Kontrollportionen, nicht sterilisiert, ohne jeglichen Zusatz, aber geimpft zeigten überall die Reaktion. Sämtliche mit B. pyocyaneus geimpfte Portionen ergaben eine ungeheuere Kolonieenzahl auf den Platten, V. denitrificans zeigte auch allenthalben starke Entwickelung, doch, wie gewöhnlich bedeutend geringere, als B. pyocyaneus.

Der folgende Versuch wurde mit fünf neuen, mir von Prof. Sabanin aus dem Institut für agronomische Chemie der Moskauer Universität gegebenen Erdböden angestellt. Die Erdböden waren folgende: 1) üppige Schwarzerde aus dem Gouvernement Samara, unter Wildkirsche, 2) weniger üppige Schwarzerde aus dem Gouvernement Orel, 3) ziemlich dunkler, lehmiger Sandboden aus dem Gouvernement Poltawa, 4) Sandboden mit 95,2 Proz. Sand aus dem Gouvernement Minsk, und 5) dunkelblauer Mergel aus dem Gouvernement Tschernigoff. Von jedem Boden wurden 2 Portionen zu je 20 g genommen, eine für B. pyocyaneus, die andere für V. denitrificans; mit dem Wasserzusatz zu den Erdböden wurde 0,045 Proz. $NaNO_3$ eingeführt. Wasser wurde je nach dem Charakter des Erdbodens in verschiedener Menge zugesetzt, doch so, daß alle Erdböden stark feucht waren. Die Erdböden wurden bei 2 Atmosphären $^1/_2$ Stunde sterilisiert, die Impfungen wurden gemacht wie immer, die Prüfung der Erdböden geschah nach 15-tägigem Verweilen derselben im Thermostaten bei 30° C. Unter anderem gaben die ersten drei Erdböden vor dem Nitratzusatz keine Nitratreaktion, der Boden No. 4 zeigte deutliche Blaufärbung, bei No. 5 Blaufärbung schwächer.

Das Resultat des Versuches war folgendes: B. pyocyaneus entwickelte sich sehr energisch in den zwei ersten Schwarzerdeböden, auf den Platten gab es eine Masse Kolonieen, bedeutend geringer war die Entwickelung im lehmigen Sandboden, sehr wenige Kolonieen gab es im Sandboden und gar keine Entwickelung gab es im dunkelgrauen Mergel; V. denitrificans entwickelte sich in keinem Erdboden, mit Ausnahme der Schwarzerde aus Orel, welche auf den Platten eine ziemlich bedeutende Anzahl von Kolonieen aufwies; weshalb derselbe in der besseren Schwarzerde aus Samara sich nicht entwickelte — ist schwer begreiflich. Was die Nitratreaktion anlangt, so war sie in sämtlichen Versuchsportionen vorhanden, doch bestand gar keine Proportionalität zwischen der Intensität der Reaktion und der Mikrobenentwickelung im Erdboden; so z. B. zeigten die Schwarzerdeböden, in denen sich B. pyocyaneus stark entwickelte und in einem auch V. denitrificans, starke Reaktionen, während der dunkelgraue Mergel, in welchem sich diese Mikroben gar nicht entwickelten, sehr schwache Blaufärbung aufwies, beim lehmigen Sandboden war die Reaktion auch schwach, wenn auch stärker als beim Mergel, der Sandboden zeigte starke Reaktion. Ueberhaupt steht die Intensität der Reaktion dort, wo offenbar keine

scharfen Unterschiede im quantitativen Nitratgehalt bestehen, mehr in einem gewissen Zusammenhang mit dem Charakter der Erdböden selbst, als mit dem Nitratgehalt in denselben. Unter anderem wurde in diesem Versuche auch die Reaktion auf HNO_2 geprüft, doch war sie nirgends vorhanden.

Analog dem letzteren wurde noch ein Versuch mit 6 ebenfalls von Prof. Sabanin bezogenen Erdböden angestellt. Die Erdböden waren folgende: 1) Schwarzerde aus dem Gouvernement Tula, 2) lehmiger Sandboden aus dem Gouvernement Twer, 3) obere Podsolschicht aus der Viehweide des Moskauer Agronomischen Institutes, 4) Sandschwarzerde aus dem Gouvernement Orenburg, 5) Torfmergel aus einem Feld des Moskauer Agronomischen Institutes und 6) obere Schicht eines Lehmbodens vom Ufer des Flusses Lopasnja im Gouvernement Moskau. Von jedem Erdboden wurden je 4 Portionen zu je 20 g in Erlenmeyerschen Kölbchen genommen, 2 Kölbchen zur Impfung mit B. pyocyaneus und 2 mit V. denitrificans, alle erhielten je 0,05 Proz. $NaNO_3$ mit mehr oder weniger Wasser; letzteres wurde in solcher Menge zugesetzt, daß alle Erdböden stark feucht wären, aber kein freies Wasser ausgeschieden würde; letzteres wurde, wie auch in den früheren Versuchen, durch vorangehende Prüfung bestimmt, dementsprechend dann jeder Boden die eine oder andere Wassermenge erhielt. Die Erdböden wurden, wie stets, bei 2 Atmosphären $^1/_2$ Stunde lang sterilisiert, die Prüfung bei 30° C ausgeführt. Die Prüfung auf HNO_3 vor Nitratzusatz zeigte, daß beide Schwarzerdeböden natürliches Nitrat enthielten, indem sie starke Reaktion aufwiesen, bei dem Lehmboden gab es eine sehr schwache Blaufärbung, in den übrigen Erdböden war gar kein Nitrat vorhanden. HNO_2 gab es in keinem Erdboden.

Die Prüfung nach 14 Tagen zeigte für die mit B. pyocyaneus geimpften Erdböden, daß alle starke Nitratreaktion zeigten, doch Nitrit war in keinem vorhanden; in sämtlichen Erdböden entwickelte sich der Mikrobe, mit Ausnahme bloß des Podsols, in welchem der B. pyocyaneus sich gar nicht entwickelte, am stärksten entwickelte er sich, wie gewöhnlich, auf den üppigsten Erdböden, den Schwarzerden 1 und 4, merklich weniger Kolonieen gab es im Torfmergel und im Lehmboden, und noch schwächer war die Entwickelung im lehmigen Sandboden, obgleich auch hier noch eine ansehnliche Anzahl von Kolonieen vorhanden war. Dasselbe Resultat wurde bei Prüfung der Erdböden nach 30 Tagen erzielt, eine Ausnahme bildete nur der Boden 2, in welchem sich B. pyocyaneus gar nicht erwies, während er bei der Prüfung nach 14 Tagen, wie eben angegeben wurde, sich entwickelte, wenn auch viel schwächer, als in den anderen Erdböden. Die Ursache dieses Verschwindens des Mikroben aus dem Boden war vielleicht das beinahe völlige Austrocknen desselben bei monatlichem Verweilen im Thermostaten, was von mir notiert worden war. Für den V. denitrificans wurde die erste Prüfung 18 Tage nach Beginn des Versuches ausgeführt: sämtliche Erdportionen zeigten starke Nitratreaktion und völlige Abwesenheit von Nitrit; was das Wachstum anbelangt, so entwickelte sich der Mikrobe nur in den Schwarzerden, wobei in dem Sandschwarzboden die Entwickelung der Kolonieenzahl noch energischer war, als in der schwereren Schwarzerde aus dem Gouvernement Tula, in sämtlichen übrigen Erdböden entwickelte sich der Mikrobe gar nicht. Die folgende Prüfung wurde 22 Tage nach Beginn des Versuches ausgeführt und das Resultat war ganz identisch mit dem ersten. Wie auch in den früheren Versuchen, zeigte B. pyo-

cyaneus auf Schwarzerden eine vielmal energischere Entwickelung, als V. denitrificans; bei ersterem waren die Platten mit Kolonieen besät, beim V. denitrificans waren ihrer relativ eine winzige Menge.

Den nächsten Versuch habe ich mit denselben Erdböden angestellt, wobei bloß die No. 1, 2, 4 und 5 genommen wurden. Für den B. pyocyaneus wurde je eine Versuchsportion des Erdbodens 4 und 5 genommen, mit Zusatz von 4 Proz. Kot und 4 Proz. Stroh zu jeder gleichzeitig; für den V. denitrificans wurde je eine Portion der Erdböden 1, 2 und 5 genommen, wobei den beiden letzteren ebenfslls je 4 Proz. Kot und Stroh zugesetzt wurde, während der Erdboden 1 ohne Zusatz blieb; sämtliche Erdböden erhielten, wie zuvor je 0,05 Proz. $NaNO_3$ und wurden sterilisiert. Das Resultat der Prüfung nach einem Monat bei 30° C war folgendes: sämtliche Erdböden waren noch genügend feucht für die Entwickelung von Mikroben, in der Sandschwarzerde und im Torfmergel fand eine energische Entwickelung des B. pyocyaneus statt mit völliger Zersetzung des Nitrats, V. denitrificans entwickelte sich auch hier nur in der Schwarzerde, in den zwei anderen Erdböden war ungeachtet des Kot- und Strohzusatzes der Mikrobe nicht vorhanden; in den Erdböden 1 und 2 war die Nitratreaktion eine starke, im Torfmergel war die Reaktion aus unbekanntem Grunde eine schwache, HNO_2 war nirgends vorhanden.

In Ergänzung zu dem letzten wurde noch ein Versuch mit den Erdböden 2, 3, 5 und 6 angestellt, die Versuchsportionen erhielten alle gleichzeitig je 4 Proz. Kot und Stroh; B. pyocyaneus wurde bloß in die Erdböden 2 und 3 eingeimpft, V. denitrificans aber in alle 4 Erdböden, in allen übrigen wurde der Versuch ebenso, wie der vorige, angestellt. Nach Verlauf von 15 Tagen ergab die Prüfung der Erdböden folgendes: B. pyocyaneus entwickelte sich energisch sowohl im lehmigen Sandboden als auch im Podsol, indem er eine Menge Kolonieen auf den Platten erzeugte; im lehmigen Sandboden war das Nitrat total reduziert, und im Podsol war die Reaktion auf HNO_3 eine sehr schwache, HNO_2 war nicht vorhanden; was den V. denitrificans anlangt, so war in sämtlichen Erdböden die Reaktion auf HNO_3 eine starke, HNO_2 war nirgends vorhanden, der Mikrobe entwickelte sich nur im lehmigen Sandboden und zeigte auf den Platten viele Kolonieen, in allen anderen fand keine Entwickelung statt; die auf 30 Tage aufgestellten Versuchsportionen zeigten folgendes: B. pyocyaneus ergab in den lehmigen Sandboden eingeimpft dasselbe, wie bei der Prüfung nach 15 Tagen, d. h. das Nitrat war total reduziert, auf den Platten waren viele Kolonieen sichtbar, aber im Podsolboden zeigten Aussaaten, im Gegensatz zu der 15-tägigen Prüfung, völliges Fehlen einer Entwickelung des Mikroben und die Reaktion auf HNO_3 war eine starke, HNO_2 war nicht vorhanden. V. denitrificans zeigte in allen Erdböden ohne Ausnahme bei Aussaaten auf Platten völlige Abwesenheit von Kolonieen und die Reaktion auf HNO_3 war allenthalben eine starke, doch im lehmigen Sandboden war ungeachtet der abwesenden Entwickelung des Mikroben die Reaktion eine schwache; demgegenüber zeigte der Mikrobe bei 15-tägiger Prüfung eine ziemlich energische Entwickelung in diesem Erdboden, aber eine starke Reaktion, HNO_2 war nirgends vorhanden.

Somit können für ein und denselben Erdboden, wie aus dem letzten Versuch hervorgeht, bei Prüfung in zwei verschiedenen Terminen entgegengesetzte Resultate erzielt werden. Die Abwesenheit der Mikroben in den angegebenen Fällen bei 30-tägiger Prüfung durch völlige Aus-

trocknung des Erdbodens zu dieser Frist und infolgedessen Tod der Keime zu erklären, ist unmöglich, denn die Erdböden waren zu dieser Zeit noch genügend feucht zur Unterhaltung des Bakterienlebens. Am ehesten muß man dieses Resultat durch den Charakter der Mikrobenentwickelung in derartigen Erdböden erklären, in denen sie ohne Düngung sich nicht entwickeln, und wenn sie sich zu entwickeln beginnen, so nur in Gegenwart dieses. Im Podsolboden ohne Düngung entwickelte sich B. pyocyaneus, wie früher angegeben wurde, nicht, ebenso entwickelte sich auch nicht V. denitrificans ohne Düngung im lehmigen Sandboden, in denselben Erdböden mit Düngung hat die Entwickelung der Mikroben offenbar sozusagen einen Rayoncharakter, wo die Mikroben sich nicht überall in allen Bodenteilen entwickeln, sondern nur an denjenigen Stellen, welche sich in mehr oder weniger nahem Kontakt mit den Partikeln des eingeführten Düngers befinden und dabei dann, sobald das infizierende Agens diese Rayons oder Nester erreichen konnte. Das ist der Grund, weshalb Impfungen aus solchen Erdböden nicht selten Resultate mit zufälligem Charakter haben können; sobald ein Bodenpartikel zur Impfung aus einer Stelle genommen wurde, wo Dünger vorhanden war und wohin das infizierende Agens gelangen konnte, erhalten wir auf den Platten Kolonieen, dort jedoch, wo zufällig keine Düngerpartikel vorhanden waren, kann man sich ein Oehr steriler Erde holen. Es läßt sich sogar ein derartiger Fall voraussetzen, daß vom Moment der Impfung des Bodens selbst, bei Anfang des Versuches, die Platinnadel mit dem Impfmaterial bei zentralem Stich die Erdmassen nur in denjenigen Stellen passieren konnte, wo zufällig zwischen den Erdpartikeln keine Düngerteilchen vorhanden waren, und dann kann die Impfung überhaupt von Anfang des Versuches an sich als resultatlos erweisen, denn das infizierende Agens wird nicht imstande sein, durch Entwickelung vom Zentrum zur Peripherie sich zu verbreiten. Ueberhaupt muß unter solchen Bedingungen die Entwickelung der Mikroben im Erdboden nicht sehr gleichmäßig sein, und in Abhängigkeit davon kann auch die Beurteilung der Entwickelung des Mikroben in solchen Erdböden vermittelst Aussaaten auf Platten nicht selten fehlerhaft sein. Für den V. denitrificans war bei drei Prüfungen mit lehmigem Sandboden und gedüngtem Erdboden zweimal absolut keine Entwickelung zu konstatieren, und einmal ergab eine Aussaat eine bedeutende Anzahl von Kolonieen; B. pyocyaneus zeigte in gedüngtem Podsolboden einmal eine energische Entwickelung, ein anderes Mal aber gar keine Entwickelung. Man darf nicht vergessen, daß bei den Bedingungen unserer Versuche, wo durch Sterilisierung aus dem eingeführten Dünger mit dem Bodenwasser einigermaßen ein Auszug gewonnen wird, welcher sich mehr oder weniger gleichmäßig im ganzen Boden verteilen und diesen somit durchweg zur Mikrobenentwickelung geeigneter machen kann, Fälle derartiger, sehr ungleichmäßiger Verteilung der Mikroben im Boden, wo ihr Sitz bloß sich auf die Stellen beschränkt, wo sich Düngerpartikel befinden, weniger häufig und die Entwickelungsrayons nicht so gering sein müssen, wie im Erdboden bei den natürlichen Bedingungen der Landwirtschaft, wo eine so künstliche Bildung von Mistauszug nicht vorhanden ist und auch eine so sorgfältige Durchmischung des Erdbodens mit dem Mist, wie es in dem Versuche stattfindet, wo die Mehrzahl der Erdpartikel in unmittelbare Berührung mit den Mistpartikeln gebracht ist, nicht vorhanden ist. Mit anderen Worten, im Felde, unter der Bedingung, daß der betreffende Erdboden zur Entwicke-

lung eines gewissen Mikroben nicht günstig ist, muß seine Entwickelung in demselben sehr ungleichmäßig sein, und steht vollständig in Abhängigkeit von der Anwesenheit seiner Keime in jedem betreffenden Bodenwinkel, der Anwesenheit der notwendigen Nährsubstanzen in demselben in Gestalt von Mistteilchen oder irgend welchen anderen organischen Nährsubstanzen, von der Möglichkeit einer Uebertragung der Mikroben aus dem betreffenden Infektionsherd in benachbarte Bodenabschnitte usw.

Zum Schluß will ich noch einen analogen Versuch mit einem aus dem Garten unseres Laboratoriums entnommenen Erdboden anführen. Dieser Boden ist am ehesten ein Mergel mit ziemlich ansehnlichem Gehalt von organischer Substanz. Versuchsportionen wurden 12 genommen, je 30 g Erde in jeder, sämtliche Portionen erhielten, wie gewöhnlich, je 0,05 Proz. $NaNO_3$, 6 Versuchsportionen wurden nach der Sterilisierung mit B. pyocyaneus, die anderen 6 mit V. denitrificans geimpft; in jeder von diesen Gruppen erhielten 2 Versuchskölbchen 8 Proz. Kot, 2 8 Proz. Stroh und 2 blieben ohne jeglichen Kot- oder Strohzusatz; alle wurden, wie immer, in den Thermostaten bei 30° gestellt.

Die Prüfung nach 15 Tagen erwies, daß in sämtlichen 6 für diesen Versuchstermin bestimmten Portionen Nitrat allenthalben vorhanden war, mit Ausnahme derjenigen Portion, welche 8 Proz. Kot enthielt und mit B. pyocyaneus geimpft war; hier war das Nitrat total reduziert. In sämtlichen drei mit B. pyocyaneus geimpften Portionen entwickelte sich der Mikrobe energisch, alle Platten waren mit Kolonieen besät; V. denitrificans entwickelte sich ebenfalls allenthalben, doch die größte Anzahl von Kolonieen wies der Boden mit 8 Proz. Kot auf, weniger Kolonieen zeigte der Boden mit 8 Proz. Stroh und wohl noch weniger oder etwa gleich war die Entwickelung in dem Boden ohne jeglichen Zusatz; im Vergleich zum B. pyocyaneus gab es Keime des V. denitrificans in sämtlichen Erdböden, wie gewöhnlich, viel weniger. Nach einem Monat war in dem mit B. pyocyaneus geimpften Erdboden mit 8 Proz. Kotzusatz, wie auch das erste Mal, das Nitrat total zerstört, doch dasselbe ergab sich auch in der mit V. denitrificans geimpften Versuchsportion mit 8 Proz. Kotzusatz; hier war das Nitrat ebenfalls zerstört, in sämtlichen anderen Portionen war Nitrat vorhanden, HNO_2 wurde weder bei der ersten Prüfung, noch bei der zweiten irgendwo nachgewiesen; was die Quantität der Mikrobenkeime in dem Erdboden anbelangt, so wurden auch dieselben Befunde gewonnen, wie bei der Prüfung nach 15 Tagen.

Das ist alles Material, welches mir zur Charakteristik des Vermögens der Versuchsmikroben, sich in Erdböden von verschiedenem Typus zu entwickeln, zur Verfügung steht, daneben auch etliche Daten über ihre Denitrifikationstätigkeit in diesen Erdböden und über den Einfluß des in den Boden eingeführten Kotes und Strohes auf diesen Prozeß. Bevor wir dieses Material zusammenfassen, wollen wir andeuten, daß die Bedingungen bei unseren Versuchen in allen Beziehungen für Entwickelung der geprüften Mikroben in den Erdböden und Entfaltung ihrer Denitrifikationswirkung die günstigsten sind im Vergleich zu dem, was bei der Landwirtschaft in dem Ackerboden sich darbietet. Bei unseren Versuchen begünstigt die starke Feuchtigkeit der Erdböden die Vermehrung der Mikroben und schafft zugleich in bedeutendem Maße anaërobe, den Denitrifikationsprozeß günstig beeinflussende Bedingungen, die Temperaturverhältnisse bieten alles Nötige zur Entfaltung einer maximalen

Wachstumsenergie seitens der Mikroben und anderer physiologischer Funktionen, die Sterilisierung der Versuchsportionen wirkt auch günstig auf den chemischen Gehalt des Erdbodens, indem sie die Menge der löslichen Nährsubstanzen in denselben erhöht, schon abgesehen davon, daß dank der Anordnung der Versuche an und für sich die Sterilisierung sämtliche Konkurrenten beseitigt und auf diese Weise den Reinkulturen der geprüften Mikroben freies Feld gewährt zur Entfaltung ihrer Lebenstätigkeit in dem betreffenden Erdboden. Wir wollen schon absehen von den für die landwirtschaftliche Praxis ungeheuren Stroh- und Kotmengen, welche zu den Versuchen benutzt wurden, von der sorgfältigen Verreibung und Durchmischung derselben mit dem Boden usw. Alles dieses führt aber, wie oben ausgeführt wurde, zu einem Maximum sämtlicher günstiger Bedingungen für die vollständige Entfaltung der Lebenstätigkeit der geprüften Mikroorganismen. Bei unserer Untersuchung hatten wir es mit 17 Proben der verschiedensten Erdböden zu tun, unter denen die am meisten verbreitesten Typen figurieren, von fetter Schwarzerde bis zu fast unfruchtbarem Sand. Wie verhalten sich nun die uns beschäftigenden Mikroben zu den betreffenden Erdböden? Schon bei oberflächlicher Uebersicht der Versuche ist es unschwer einzusehen, daß der B. pyocyaneus auch hier analog den Versuchen mit Bouillonkulturen sich als mehr energisch und lebenstätig erwiesen hat, als der V. denitrificans. Von allen 17 untersuchten Erdböden hat sich der B. pyocyaneus bloß in 4 nicht entwickelt, und zwar im Torfboden, Rasenboden, im dunkelgrauen Mergel aus dem Gouvernement Tschernigoff und im Podsolboden, während V. denitrificans in 11 Erdböden nicht wachsen wollte und bloß im Blätterboden des 2. Versuches, im Gemüsegartenboden, im Mergel des letzten Versuches und in 3 Schwarzerden zur Entwickelung kam.

Wenn wir das Entwickelungsvermögen der Mikroben im allgemeinen und im einzelnen den Grad ihrer Wachstumsenergie in den betreffenden Erdböden der Natur derselben entsprechend der landwirtschaftlichen Klassifizierung gegenüberstellen, so werden wir sehen, daß das Entwickelungsvermögen und die Wachstumsenergie der Versuchsmikroben in den betreffenden Erdböden offenbar in direkter Abhängigkeit steht von ihrem Ueppigkeitsgrade und besonders ihrer Fruchtbarkeit. Je untätiger in landwirtschaftlichem Sinne der Boden sich verhält, wie z. B. der vor allem bereits wegen seiner sauren Reaktion untätige Torfboden oder der an Nährsubstanzen arme Sandboden, oder der trotz eventuellem Reichtum an Nährsubstanzen unfruchtbare Lehmboden, desto schlechter entwickeln sich in demselben die Mikroben oder wollen gar nicht wachsen. So wollen z. B. beide Mikroben in den am wenigsten fruchtbaren, an löslichen Nährsubstanzen armen Erdböden, wie der Torf-, Rasenboden, Podsol und dunkelgraue Mergel, gar nicht wachsen; ferner will der V. denitrificans als im allgemeinen weniger tätiger Mikrobe auch in vielen anderen Erdböden nicht wachsen, obgleich diese offenbar reicher an Nährsubstanzen sind, als die ersteren, und wächst nur in den üppigsten und fruchtbarsten Erdböden, im Gemüsegartenboden, in den 3 Schwarzerden, im Blätterboden und in Mergel des letzten Versuches. Unverständlich erscheint bloß, wie oben erwähnt, daß der Mikrobe in der offenbar üppigsten Schwarzerde aus dem Gouvernement Samara nicht wachsen wollte; höchstwahrscheinlich hat hier ein Zufall mitgespielt, doch leider ist der Versuch mit diesem Erdboden nicht wiederholt worden. Beim B. pyocyaneus als energischerem und mehr tätigem Mikroben, welcher

sogar in wenig fruchtbaren Erdböden sich zu entwickeln vermag, wird die Abstufung der Erdböden in bezug auf die Energie seines Wachstums in demselben anschaulicher und konsequenter. In den ersten vier oben genannten Erdböden will der Mikrobe, wie bereits angegeben, gar nicht wachsen, im Sandboden gibt es bereits eine Entwickelung, aber sehr schwache, ein stärkeres Wachstum im lehmigen Sandboden, Torfmergel und im Lehmboden und eine sehr energische Entwickelung in den fruchtbarsten Erdböden — in sämtlichen 4 Schwarzerden, im Gemüsegartenboden und im Mergel des letzten Versuches.

Die Beobachtungen durch Daten aus der Literatur der Denitrifikationsfrage zu ergänzen und zu betrachten, sind wir leider nicht imstande, weil diesbezügliche Untersuchungen nicht vorhanden sind; es gibt bloß wenige Beobachtungen, welche man, wenn auch indirekt, zur Klärung der Frage nach der uns interessierenden Richtung hin benutzen kann. Es muß bemerkt werden, daß sogar die Frage, ob die Erdböden überhaupt die Denitrifikatoren als beständige Urbewohner enthalten, von den verschiedenen Forschern offenbar noch nicht ganz einstimmig gelöst wird. So stellt Jensen die Anwesenheit von Denitrifikatoren im Ackerboden in Abhängigkeit von Mistdüngung des Feldes; mit dem Mist werden sie in den Boden eingeführt, derselbe unterhält dort einige Zeit ihre Existenz; in nicht gedüngtem Erdboden können nach Jensen die Denitrifikatoren nicht lange leben. Kühnemann ist der Ansicht, daß sowohl der Erdboden als auch der Mist eigene spezifische Denitrifikatoren besitzen, und schließlich sagt der Vertreter der dritten Ansicht, Höflich, entgegen beiden Autoren, daß der Erdboden regelrecht Denitrifikatoren enthält (er hat 12 verschiedene Erdböden untersucht), daß kein besonderer Unterschied zwischen gedüngten und ungedüngten Böden in bezug auf Denitrifikatorengehalt besteht, daß die Denitrifikatoren des Bodens und des Mistes ein und dieselben sind, daß überhaupt die Denitrifikatoren des Mistes, Strohes und des Bodens einer Ortschaft in einem innigen Zusammenhange stehen und schließlich, daß die Bodendenitrifikatoren auch ohne jährliche Düngung ihre Vitalität erhalten können. Wenn von Denitrifikatoren die Rede ist, welche bei der Reduktion nicht freien Stickstoff, sondern NH_3 bilden, so haben z. B. Stoklasa, Jellinek und Ernst in den böhmischen Rübenfeldern die beständige Anwesenheit von 3 Arten solcher Denitrifikatoren, welche bei der Zersetzung von HNO_3 Ammoniak bilden, konstatiert.

Für Böden im landwirtschaftlichen Sinne, d. h. solche, welche bearbeitet und in gewissen Zeiträumen gedüngt werden, erscheinen uns die Höflichschen Thesen als die richtigsten, doch bei Erörterung der Frage von unserem Standpunkte aus, wo der Boden als selbständiger Faktor ohne Zusammenhang mit der Düngung betrachtet wird, möchten wir die Höflichschen Thesen durch folgende Erwägungen erweitern: 1) Angesichts des Reichtums des Mistes an Nährstoffen kann man annehmen, daß alle Denitrifikatoren des Bodens auch im Miste leben können, doch nicht alle Denitrifikatoren des Mistes können Bewohner des Bodens sein; das läßt sich a priori sagen, dasselbe bestätigt sich auch an dem Beispiele unserer zwei Denitrifikatoren; nach unseren früheren Untersuchungen[1]) entwickeln sich der V. denitrificans und

1) Siehe unsere Publikationen, betitelt: „Die im Miste vorkommenden Bakterien und deren physiologische Rolle bei der Zersetzung desselben", gedruckt in früheren Jahrgängen dieser Zeitschrift.

B. pyocyaneus ausgezeichnet im Miste, doch in Böden ist das, wie wir oben gesehen haben, lange nicht immer der Fall, hier steht ihre Entwickelung mehr oder weniger im Zusammenhange mit dem Grade der Ueppigkeit und Fruchtbarkeit des Bodens. 2) Folglich müssen in Abhängigkeit von dem Charakter des Bodens und der Natur der Denitrifikatoren selbst die Erdböden nach ihrer Denitrifikatorenflora unterschieden werden; es ist leicht verständlich, daß durch Einführung von Dünger die Denitrifikatorenflora der Böden für einige Zeit, qualitativ wenigstens, in bedeutendem Maße nivelliert wird, sowohl durch die unmittelbare Einführung der Denitrifikatoren selbst mit dem Mist, als auch durch die Zunahme von Nährstoffen im Boden.

Unter anderem sind in der Höflichschen Arbeit die Resultate von bakteriologischen Analysen 12 verschiedener Böden angegeben, welche zwecks Auffindung von Nitrate bis zu freiem N zerstörenden Denitrifikatoren in denselben ausgeführt wurden. Autor zieht keine Parallelen nach der uns interessierenden Richtung, doch aus den von ihm angeführten Daten läßt sich diese Parallele ziehen und diese läßt sich einigermaßen zur Beleuchtung unseres Standpunktes verwerten. Sämtliche vom Autor untersuchten Böden enthielten Nitrate bis zu freiem Stickstoff zersetzende Denitrifikatoren, doch ihre Artverschiedenheit war trotz der Mannigfaltigkeit der untersuchten Böden eine beschränkte, sämtliche isolierte Denitrifikatoren gehörten 3 Arten an, von denen einzelne Böden alle 3 Species, andere zwei oder eine enthielten. Leider ist es ziemlich schwer, einen Zusammenhang zwischen dem Reichtum der untersuchten Böden an Nährstoffen und ihrer Denitrifikatorenflora herauszufinden, erstens aus dem Grunde, weil Autor seine Böden nach dieser Richtung hin nicht charakterisiert, sondern bloß ihre Benennung angibt, zweitens sind die Daten quantitativ zu gering, als daß man auf Grund ihrer das uns interessierende Wechselverhältnis herausfinden könnte.

Autor deutet in dieser Beziehung nur an, daß in drei von ihm untersuchten ungedüngten Böden stets der V. denitrificans vorhanden war, während in den übrigen 10 Böden (man muß annehmen gedüngten) am häufigsten B. proteus denitrificans angetroffen wurde. Uebrigens macht Autor hierselbst die Randbemerkung, daß man, angesichts der geringen Anzahl von Untersuchungen, dieser Beobachtung keine besondere Bedeutung beimessen darf. Ueberhaupt findet Autor keinen Unterschied zwischen gedüngten und ungedüngten Böden. Nichtsdestoweniger möchten wir unter diesen Daten das hervorheben, daß zwei nicht gedüngte Böden (IV und IX) nur je eine Denitrifikatorenspecies, und No. VIII, ein ebenfalls nicht gedüngter Boden, 2 Species enthielt, dabei gehören alle diese drei Böden, wie aus ihren Benennungen — Lehmmergel und sandiger Lehm — hervorgeht, offenbar nicht zu den üppigen Böden, was Fruchtbarkeit anlangt; andererseits enthielten 3 Denitrifikationsspecies gleichzeitig bloß 2 Böden und offenbar mehr oder weniger fruchtbare, und zwar No. V feinsandiger lehmiger Humusboden und feinsandiger Humusboden No. X, d. h. in an resorbierbaren Nährstoffen reicheren Böden, unter der Bedingung natürlich, daß unsere Definition des Fruchtbarkeitsgrades richtig war, ist die Mannigfaltigkeit der Denitrifikatorenarten größer als in armen Böden.

Ich wende mich nun wieder der weiteren Erörterung meiner Versuche zu.

Daß die Entwickelungsenergie der Mikroben in Abhängigkeit steht von dem Vorhandensein eines größeren oder geringeren Quantums von

Nährstoffen in den Böden, daß läßt sich teilweise auch aus den wenigen Versuchen ersehen, bei denen in die Böden Dünger eingeführt wurde, obgleich die Resultate derselben nicht selten, wie oben hervorgehoben wurde, durch einige aus der Anordnung der Versuche an und für sich hervorspringende Umstände vertuscht wurden. Für den V. denitrificans hat die Einführung von Stroh und Kot in die Böden einen geringen Einfluß auf seine Entwickelungsenergie. In sämtlichen Böden, wo der Mikrobe sich nicht entwickelte, hat ein Zusatz sogar einer so immensen Stroh- und Kotmenge, wie 8 Proz. vom Bodengewicht, ebenfalls ihn nicht zur Entwickelung angeregt, bloß einmal im lehmigen Sandboden aus dem Gouvernement Twer wurde unter dem Einfluß einer Düngereinführung seine Entwickelung in dem betreffenden Boden konstatiert, doch in zwei anderen identischen Prüfungen zeigte er wieder kein Wachstum. Doch daß dieser Mikrob unter mehr oder weniger günstigen Bedingungen sich dennoch nicht indifferent zur Einführung von Dünger verhält, das geht aus dem letzten Versuch hervor, wo er im Mergel mit 8 Proz. Kotzusatz eine große Anzahl von Kolonieen auf den Platten aufwies, auf demselben Boden mit 8 Proz. Stroh war diese Kolonieenzahl bereits bedeutend geringer und noch weniger Kolonieen gab es offenbar im Mergel ohne jeglichen Zusatz. Für den B. pyocyaneus ist dieser Einfluß von Kot und Stroh deutlicher und zwar in denjenigen Böden, wo er schwach wuchs, in den anderen Böden war dieser Einfluß schwer herauszufinden, weil er überall eine so ungeheuere Kolonieenzahl erzeugte, daß es unmöglich war, einen quantitativen Unterschied zwischen denselben mit dem Auge herauszufinden. Im Torfmergel und im lehmigen Sandboden aus dem Gouvernement Twer hat sich der Mikrobe, wie oben angegeben wurde, schwach entwickelt, doch als diese Böden gleichzeitig je 4 Proz. Kot und Stroh erhielten, zeigte er auf den Platten eine ungeheuere Kolonieenzahl; sogar im Podsolboden, wo er sich gar nicht entwickelte, zeigte ein Zusatz dieses Düngerquantums bei einer Prüfung eine starke Entwickelung des Mikroben, doch bei einer anderen gleichartigen Prüfung war das Resultat ein negatives.

Für den günstigen Einfluß der Düngung auf die Entwickelung der Mikroben in den Böden sprechen auch teilweise diejenigen Versuchsdaten, welche die Frage des Denitrifikationsvermögens derselben berühren. Freilich liefert diese Seite der Versuche dank ihrer Anordnung wenig Material zu einer Schlußfolgerung, denn es ist natürlich unmöglich, die Energie des Denitrifikationsprozesses vermittelst einer qualitativen Reaktion zu messen; ein positives Resultat erhält man bloß in den wenigen Fällen, wo das Nitrat in den betreffenden Böden völlig zersetzt ist, in sämtlichen übrigen Fällen aber können wir nicht nur über den Energiegrad des Prozesses nicht urteilen, sondern können nicht einmal sagen, ob der Prozeß im gegebenen Falle vor sich geht oder nicht. Nichtsdestoweniger geben die wenigen bei den Versuchen erzielten positiven Resultate, sowie auch einige Details der Versuche die Möglichkeit, einiges dabei herauszufinden.

Zunächst läßt sich auf Grund von Kontrollversuchen das Faktum konstatieren, daß kein einziger Boden, sobald er unter sämtlichen günstigen Bedingungen des Versuches in seinem natürlichen Zustande, d. h. nicht sterilisiert, mit beibehaltener Bakterienflora, ohne jegliche Düngung gelassen wird, in keinem einzigen Falle totale Nitratzerstörung aufwies. Das nämliche Resultat ergaben auch die Versuche mit Reinkulturen, d. h. kein einziger Boden ohne Düngung zeigte bei den Bedingungen unserer

Versuche totale Nitratreduktion, möge nun mit B. pyocyaneus oder V. denitrificans geimpft worden sein, eine Ausnahme bildet bloß der Blätterboden bei Impfung desselben mit B. pyocyaneus. In dem Versuche mit der ersten Blätterbodenportion sah man totale Nitratreduktion in den Versuchsportionen, welche natürliches Nitrat enthielten, in denjenigen aber, wo zudem künstliches Nitrat zugesetzt war, kam es zu keinem totalen Schwund, in dem anderen Blätterboden des folgenden Versuches wurde das Nitrat nicht nur in den Portionen mit natürlichem Nitratgehalt, sondern auch das künstlich zugesetzte total zerstört. Somit geht ohne Zusatz irgend welcher Nährstoffe von auswärts, sogar in sehr reichen und fruchtbaren Böden, wie z. B. im Gemüsegartenboden oder sämtlichen anderen für die Versuche verwendeten Schwarzerden, ungeachtet aller günstigen Versuchsbedingungen, kein so energischer Denitrifikationsprozeß vor sich, daß alles Nitrat reduziert würde, mögen das nichtsterile Böden oder solche sein, welche bloß Kulturen der zwei geprüften Denitrifikatoren enthalten; eine Ausnahme bildete bloß der Blätterboden. Jedoch die Einführung von Nährmaterial in den Boden von auswärts erhöht die Zahl der Fälle mit positivem Resultat. So tritt bei demselben B. pyocyaneus totale Nitratreduktion ein im Gemüsegartenboden mit natürlichem Nitratgehalt und 8 Proz. Kotzusatz, im Mergel des letzten Versuches mit künstlich zugesetztem Nitrat und mit 8 Proz. Kot, in der sandigen Schwarzerde aus dem Gouvernement Orel, im Torfmergel und im lehmigen Sandboden aus dem Gouvernement Twer, in allen diesen Böden, welche künstliches Nitrat und gleichzeitig je 4 Proz. Kot und Stroh erhielten, trat totale Nitratreduktion ein; beim V. denitrificans wurde bloß ein Fall von totaler Nitratreduktion konstatiert und zwar im Mergel des letzten Versuches, welcher künstliches Nitrat und 8 Proz. Kot erhalten hatte. Prüfungen des Einflusses der Düngung auf nicht sterile Böden wurden nicht ausgeführt.

Somit stellen alle diese Fälle mit konstatiertem energischen Denitrifikationsprozeß im Verein mit den Daten, welche die Entwickelungsenergie der Mikroben in den Böden charakterisieren, die Tatsache fest, daß Kot und Stroh vereint sowohl das Wachstum als auch überhaupt die Lebenstätigkeit des B. pyocyaneus und V. denitrificans in den Böden günstig beeinflussen, nur reagiert der V. denitrificans als im allgemeinen weniger wirksamer Mikrobe viel schwächer auf die Düngung, als der sehr energische B. pyocyaneus. Was den verhältnismäßigen Einfluß von Kot und Stroh auf die Lebenstätigkeit der Versuchsmikroben anlangt, so entfaltet in allen Fällen, wo es Angaben darüber gibt, der Pferdemist zweifellos eine größere Wirkung, als das Stroh; was letzteres anlangt, so geben uns eigentlich die Versuchsergebnisse kein Material in die Hand, um über dasselbe zu urteilen, der allgemeine Eindruck schafft aber die Vorstellung von totaler Belanglosigkeit des Strohs für die Lebenstätigkeit beider Mikroben. Was den Einfluß des Düngerquantums auf den Effekt des Denitrifikationsprozesses anlangt, so fehlen diese Daten in unseren Versuchen; der Versuch mit dem Blätterboden, wo verschiedene Kot- und Strohmengen verwendet wurden, ergab in sämtlichen Fällen, sowohl mit mehr oder weniger Stroh- und Kotzusatz, als auch ganz ohne diese totale Nitratreduktion. Bei den anderen Versuchen wurde bloß die maximale Düngermenge von 8 Proz. verwendet, und nur in dem Versuche mit dem Gemüsegartenboden, wo verschiedene Kot- und Strohmengen genommen und außerdem noch Versuchsportionen mit 2 Proz. Stärke aufgestellt wurden, läßt sich notieren, daß die totale

Nitratreduktion, welche einmal bei dem B. pyocyaneus eingetreten ist, nur bei maximalem Zusatz von 8 Proz. stattgefunden hat; bei 2-proz. Zusatz von Kot, Stroh und Stärke, sowie auch bei 8 Proz. Strohzusatz gab es solch einen Effekt nicht.

Was schließlich die Bildung von HNO_2 in den Böden anbelangt, so wurde in keinem einzigen Falle ein solches Auftreten von HNO_2 konstatiert.

In einer noch folgenden Arbeit gedenke ich, einiges angehäuftes Material bezüglich der quantitativen Seite der Frage über die Denitrifikationstätigkeit des V. denitrificans und B. pyocyaneus im Boden zu publizieren, einstweilen aber möchte ich auf Grund des hier vorgeführten Materials eine Verallgemeinerung machen in dem Sinne, daß der eine oder andere Mikrobe im allgemeinen und im einzelnen als Denitrifikator durchaus nicht in jedem Boden sich entwickeln kann, daß die Bakterienflora des Bodens in ihrer Zusammensetzung offenbar von dem Wechselverhältnis zwischen der Natur des Bodens einerseits und der Natur der Bodenmikroben andererseits abhängig ist. Gleich den höheren Pflanzen stellen auch die niedrigsten Vertreter dieses Reiches, die Mikroben, ihr Wachstum und ihre Fortpflanzung in direkte Abhängigkeit von dem Vorhandensein eines größeren oder geringeren Quantums von Nährstoffen in dem betreffenden Boden; je reicher der Boden an diesen ist, desto energischer ist in demselben die Fortpflanzung der Mikroben und desto zahlreicher muß der Artbestand der Bakterienflora des Bodens sein, und umgekehrt, je ärmer der Boden ist, desto schwächer wird die Mikrobenentwickelung sein, und der qualitative Bestand der Bakterienflora eines solchen Bodens wird auf Mikroben mit größter Energie und Lebenstätigkeit, welche dank dieser Energie sich das notwendige Nährmaterial sogar in einem so armen Boden zu finden vermögen, beschränkt sein. Sobald wir auf diese Weise an dem Wachstumsbilde der höheren Pflanzen auf den Böden uns eine gewisse Vorstellung von dem größeren oder geringeren Reichtum des Bodens an Nährstoffen schaffen, so läßt sich offenbar die gleiche Methode der Bodenschätzung auch mit Hilfe der Bakterienflora der Böden ausführen. Wenn dort die Natur der Pflanze als Indikator in Rechnung gezogen wird und ihre individuellen Eigenschaften, so muß ebenso auch hier die Natur des betreffenden Mikroben bei Verwendung einer derartigen Methode der Bodenschätzung eingerechnet werden. Natürlich sind das einstweilen bloß Anfangsschritte in der Erforschung der Wechselbeziehungen zwischen Boden und Bakterien; das sind alles Zukunftsfragen und unter ihnen wäre die Beleuchtung der Frage über den Reichtum und die Fruchtbarkeit der Böden im Zusammenhange mit dem qualitativen und quantitativen Bestand der Bakterienflora in denselben von besonderem Interesse.

Nachdruck verboten.

The gum produced by Bacillus radicicola.

[From the Bacteriological Laboratory, Ogden Graduate School of Science, University of Chicago.]

By **Robert Earle Buchanan.**

In the course of a study of the cultural and morphological characters of a number of races of Bacillus radicicola, I have repeatedly observed that the organisms under certain conditions and in certain media produced a considerable amount of a mucilaginou sor gummy material. The quantity of this material is often sufficient to render the cultures on solid media extremely viscid, and to change the consistency of liquid media to that of a thick syrup or even gelatin. Inasmuch as the metabolic and fermentative products of B. radicicola are of considerable interest and significance in their possible bearing upon the method of nitrogen fixation by such forms, somewhat extended observations were made upon the production and nature of this material under different conditions. The present paper embodies the results of studies with organisms derived from the nodules of a variety of legume species. These were grown in various culture media for the purpose of determining the conditions most favorable for the development of this gum. The results of a study of the physical and chemical characters of this material, its morphological derivation and ecological significance are also presented.

The ability to produce slimy, gelatinous or gummy materials is one that has been noted in a considerable number of species of bacteria. Socalled viscous fermentations that sometimes occur in the sugar refinery, the brewery, the dairy, the bakery and in the plant infusions of the pharmacist have often been observed, and their cause in most instances has been shown to be bacterial in nature. Some yeasts, and a few molds, such as Dematium pullulans are, however, likewise capable of bringing about very similar results.

The nature of the gummy materials produced in different instances is very possibly as varied as are the organisms bringing about its production, and perhaps in some cases depends on the composition of the medium and varies with it. Up to the present, the exact chemical and physical nature of these substances has been carefully studied in but few instances.

Isolation and purification of the gum.

A 2 % solution of saccharose in tap water was prepared, and 500 c. c. placed in each of 8 one liter flasks. After sterilization, these were inoculated with Bacillus radicicola from the root nodules of the bean (Phaseolus vulgaris). At the end of two weeks the solution had in every case become very gelatinous. To each flask was then added 1000 c. c. of 95 % alcohol, causing considerable amount of a white precipitate to appear; this was filtered out, washed several times in alcohol and redissolved in distilled water. It was then again precipitated, and the process repeated five times. The precipitate was finally collected and dried.

Description of the gum.

In the culture fluids above noted, the gum is apparently, in many cases, partly in solution and partly as an insoluble modification in the form of zoogloeal masses. When the latter are present in considerable quantities they give to the medium the appearance of partially precipitated silicic acid. The addition of alcohol causes the precipitation of the gum in the form of a soft, transparent, mass of the consistency of soft rubber when moist, and hard and brittle when dry.

Chemical properties. For the purpose of testing the chemical properties of the gum, a five percent solution was used in all experiments except where there is a statement to the contrary.

a) The action of precipitants.

Alcohol. Precipitation begins when there is present approximately 65 % of alcohol. Lower percentages have no effect other than that of dilution. The precipitate rises to the top as a mucilaginous, rubbery mass of a creamy white color. It redissolves readily on the addition of water.

Ammonium sulfate. Precipitation of the slime occurs upon the addition of three parts of saturated solution of ammonium sulfate to two parts of the solution of the gum. The precipitate resembles that produced by alcohol, and is likewise readily soluble on the addition of water.

Magnesium sulfate. No precipitation occurs when a saturated solution of magnesium sulfate is added, but after complete saturation of the solution with crystals, a precipitate forms in the course of twenty four hours. It is similar to that of the ammonium sulfate.

Sodium chlorid. Saturation with crystals, no precipitate.

Lead acetate. Saturation with crystals, no precipitate.

Ammoniacal lead acetate. An abundant white, flocculent precipitate forms immediately on the addition of ammoniacal lead acetate.

Mercuric chlorid. Saturation with crystals, no precipitate.

Copper sulfate. No precipitate.

Ammoniacal copper oxide. A flocculent precipitate.

Sodium hydrate. No precipitate.

Acids. No precipitation occurs upon the addition of various dilutions (1 %, 10 % and 50 %) of acetic, hydrochloric, nitric, sulfuric, picric and tannic acids.

b) Action of Fehling's solution. The gum does not reduce Fehlings solution. Heating with dilute sulfuric acid (2 %) in a flask for a few minutes does not hydrolize the gum so that Fehling's solution is reduced. However, when the solution with 2 % of sulfuric acid is heated in the autoclav for an hour at a pressure of one atmosphere, hydrolysis occurs and Fehling's solution is reduced, showing the presence of a sugar.

c) Tests for Proteids. The solution does not give proteid reactions with the Millon, xantho-proteic or the biuret tests. Evidently the gum contains no appreciable trace of proteids.

d) Test for combined nitrogen. It was thought that the gum might be a nitrogenous compound of a simpler type than the proteids, a qualitative test was therefore carried out to determine the presence or absence of combined nitrogen by converting it into the cyanid and obtaining the Prussian blue reaction. This reaction, characteristic of organic nitrogenous compounds did not appear, hence the gum contains no nitrogen in

combination. It cannot, then, be in any way related to the mucins. The bearing of this fact upon theories of legume nutrition will be noted later.

Historical résumé of work on bacterial gums and slimes.

No summary of the literature of gum production by bacteria is known to the writer in which there is a survey of more than a portion of the field. This literature is quite extensive, hence only the more important points of interest will be noted.

As has been already intimated, very few investigators have made a careful determination of the chemical and physical character of the gums and related substances studied by them. Even when such was made, no especial care seems to have been used in many cases in the purification of the product. A rigid classification of results thus seems to be impossible. One source of error should be noted in any classification of these materials into nitrogenous and non-nitrogenous, the fact that in the use of precipitants for removing the gums from the media in which they are produced, the bacterial cells with their contained protoplasm are carried down also. Just how serious an error this introduces would probably vary with the organism. Manifestly an analysis of any such material would give a small percentage of nitrogen. This protoplasmic content, however, will not account for the large proportion of nitrogen that has been found by some investigators.

Organisms producing slimes with a high nitrogen content grow best in a medium with a large proportion of combined nitrogen, such as milk or peptone solution. Weigmann (1899) first showed the bacterial origin of ropy whey (langen Wei), but did not determine its composition. Héry (1891) found that the viscous material was precipitated by alcohol, and later Henzold (1901) in a careful investigation of its nature whowed that it gave the protein reactions, contained 14,41 % of nitrogen, and gave a specific rotation of 60,88°. Several other investigators have described organisms as the cause of slimy milk, without determining the nature of the slime. Among these are Gruber (1907), Hohl (1902), Harrison and Barlow (1905), Sato (1907) and Düggeli (1907). It is very probable that this viscous material is related to the bacterial mucins that have been described by Lepierre (1898) and Rettger (1903) as produced in greater or smaller quantities by a variety of organisms. They are characterized by being.

1) Precipitated by weak acids and insoluble in distilled water.

2) Soluble in weak alkalies.

3) Decomposed on boiling with weak acids into a protein body and a substance which reduces Fehling's solution. The presence of this carbo-hydrate radical indicates that the transition to those forms that produce a nitrogen free slime or gum is by no means abrupt. A nitrogenous slime of somewhat different character has been described by Malerba and Sanna Salaris (1888) as produced by Bacterium gliscrogenum in urine. The gliscrin so produced was found to give the protein reactions. When precipitated by alcohol and purified, it is a white, glutinous, elastic substance, dark and brittle when dried, and soluble in weak acids. Even after boiling with dilute acids, Fehling's solution is not reduced.

Of the bacterial gums that are not nitrogenous, a large proportion have been so inadequately described that it is impossible to make an

accurate catalogue of them. They may be conveniently grouped as polymers of the sugars into which they are hydrolyzed on boiling with acids.

Dextrans. The first gum of bacterial origin to be studied carefully was that produced by the Streptococcus (Leuconostoc) mesenteroides when grown in the presence of certain carbohydrates. On account of its economic importance in the manufacture of sugar it has been studied more thoroughly than any other. Scheibler (1874) determined that the gum had the empirical formula of cellulose, starch and dextrin. He described it as an anhydride of dextrose, and named it dextran. Without recognizing the specific cause, Jubert (1874) showed that growth was stopped by the addition of carbolic acid. Mendes (1875) noted the resemblance of the organism to a hyaline Nostoc. Borscow (1876) decided that the material was a pectin, and Durin (1876), wholly misinterpreting the phenomenon, decided that it was cellulose formed from sugar by the enzymes of the beet root. Van Tieghem (1878) gave the first adequate description of the cause, and showed, on account of the gum's insolubilty in cupric ammonia, that it could not be a true cellulose. He found that the dextran in sugar solution exists as a water-insoluble modification, which is converted into the water-soluble form by boiling with calcium hydrate. Wegner (1890), Liesenberg and Zopf (1892) and Däumichen have also contributed to our knowledge of this subject. The best description of this gum is that given by Lippman (1904). Purified repeatedly with hydrochloric acid and reprecipitation with alcohol, it forms, when dried, a neutral, white, amorphous mass of the formula $C_6H_{10}O_5$. It is soluble in water with some opalescence, and is completely precipitated by ethyl, incompletely by methyl alcohol, as an elastic mass insoluble in cupric ammonia. Various authors give the specific rotation as between $\alpha j = +195^0$ and $\alpha_D = +223^0$. Dextran dissolves in cold, concentrated sulfuric acid, and in warmed, dilute solutions. When boiled with the latter or heated in a closed vessel at $120-125^0$ C, it breaks down into a non-fermentable dextrin and then quantitatively into glucose.

Many other organisms are known to produce dextrans. Pasteur (1861) first showed the slimy fermentation of carbohydrate solutions to be bacterial in origin, and the slimy material to be a gum to which he assigned the formula $C_{12}H_{20}O_{10}$. Monoyer (1862) differentiated mannite and gum fermentation, and revised the equations submitted by Pasteur as representing the reactions. Baudrimont (1875) however, concluded that in the viscous fermentation of sugar solutions, the sugar itself was not utilized, and that the ferment was nitrogenous in nature. Béchamp (1881) described, under the name of viscose, a gum produced from cane sugar solutions by Micrococcus viscosus. In its precipitability by alcohol, solubility, rotatory power, its failure to reduce Fehling's solution until after heating with acids, it resembled Scheibler's dextran, and was regarded as identical. Probably the gum produced by the Micrococcus viscosus I and II of van Laer (1889) is of a similar nature, although one of the constituents was found to be nitrogenous. The same may be said of the B. viscosus vini and B. viscosus sacchari described by Kramer (1889), the gum having a formula of $C_6H_{10}O_5$. Bräutigam (1891) and Ritsert (1891) showed that dextran production by Micrococcus gelatige-

nosus was independent of any albuminous substances in the medium. Other bacteria said to produce dextran are Bacterium gelatigenosum betae (Glaser 1895), Clostridium gelatigenosum (Laxa), Bacillus gummosus and Micrococcus gummosus (Happ 1893), Bacillus viscosus III (Vandam 1896), Micrococcus viscosus (Orth 1899), Streptococcus hornensis (Boekhout 1900) and Bacillus panis viscosus (Tillmans 1902).

Levulans. Laxa found that a carbohydrate hydrolizing to d-fructose was produced by a variety of Clostridium gelatigenosum, and his results were verified by Stift. Maassen (1905) determined the cause of certain Leuconostoc-like masses in sugar solutions to be Semiclostridium commune. This species with three others which he isolated from different sources possessed this power of levulan formation. Levulan is described by Lippman (1904) as readily soluble in hot milk of lime. The freshly precipitated material, when in the moist condition is readily soluble in hot and cold water, and when completely deprived of its water by alcohol forms a white, amorphous, highly hygroscopic powder with a melting point of 250° C. In this condition it is insoluble in cold, but soluble in hot water. One half per cent is sufficient to cause the solution to solidify on cooling. It does not reduce Fehling's solution, is precipitated by lead acetate in concentrated solutions, and is hydrolyzed quantitatively on heating with dilute sulfuric acid to d-fructose.

The laevan described by Greig Smith (1906) as produced by Bacillus laevaniformans resembles the above in being hydrolyzed to d-fructose, but it differs in its melting point and its rotatory power. Fehling's solution is not reduced. The gum is precipitated as a white insoluble compound by strontium and baryta water and by ammoniacal lead acetate.

Galactans. Schmidt-Mühlheim (1883) found that a streptococcus isolated by him from ropy milk produced slime only in the presence of sugar. Precipitation with alcohol yielded a white, usually fibrous material, slightly elastic, swelling, but not dissolving in cold water, but dissolving in hot water to a cloudy solution. The viscose produced by Hueppe's (1884) coccus is probably of the same nature. This also may be said of Leichmann's (1894) bacterium. Emmerling (1900) found the slime produced by B. lactis aërogenes in milk to be precipitated by alcohol. When dried it is a tasteless powder, easily soluble in water. It does not reduce Fehling's solution until hydrolyzed with dilute acid. It yields mucic acid on treatment with nitric acid. Schardinger (1902), working with a variety of B. lactis aërogenes, determined the formula of the gum to be $C_6H_{10}O_5$. The carefully prepared solution is nitrogen free. The gum swells in water and dissolves on agitation to a clear, gelatinous solution. It is, however, optically inactive. Fehling's solution is not reduced. Boiling with dilute acids yields a reducing sugar. Both oxalic and mucic acids are produced on oxidation with nitric acid, and his conclusion is that the substance is an arabo-galactan. Greig Smith (1905) has described an organism, Bacterium atherstonei, that produces a galactan, and Bacterium pseud-arabinum that produces a gum having many of the reactions of arabin, but hydrolyzing to galactose. Dematium pullulans was also found to produce a gum, a par-arabin that hydrolyzed to dextrose and galactose. Laurent (1885) described an erythro-dextrin

as the gummy product of the growth of Bacillus panificans in slimy bread. The gum produced by Bacillus spongiosus (Ruhland 1906) is a pure araban without any admixture of galactans or hemicelluloses.

Ward (1892) found that the slime of the ginger beer plant, Bacterium vermiforme, gives none of the reactions of cellulose. Later Ward and Green (1899) isolated from a culture of a "sugar bacterium" a carbohydrate, which was precipitated by alcohol, and reduced Fehling's solution only after hydrolysis.

Seiler (1905) has determined the presence under certain conditions of glucose and fructose groups in the gums of Leuconostoc mesenteroides, Streptococcus hornensis, Bact. K., B. viscosus (Adametz), B. mesentericus vulgatus; and glucose, galactose and fructose groups in the gums of Bact. aërogenes, B. bruxellensis and Dematium pullulans.

That Bacillus radicicola sometimes forms slimes or gums has been noted by several investigators, although no det a iled work has been reported. Beijerinck (1890) described the white, half fluid, slimy colonies on gelatin, and later (1901) a white sediment in certain fluid culture media. Prażmowski (1890) found that old cultures of the organism became mucilaginous, and in a subsequent paper (1891) states that the colonies of the organism on solid media become very viscous owing to the presence of a substance having none of the reactions of cellulose. He observed also the formation of viscid droplets at the bottom of a liquid medium, and concluded that the ropiness was due to the production of a substance similar to that developed by some of the slime producing bacteria. Kirchner (1896) and later Burri, Stutzer and Maul (1898) have noted that the colonies form white, slimy drops more or less mucilaginous in appearance. R. Greig Smith (1899) found the colonies of the organism from the lupine to be paraffin like in appearance and to be glutinous to the touch. Hiltner (1900) observed the appearance of zoogloeal masses in certain culture fluids, and similar observations were made by Stutzer (1901). Hiltner and Stoermer (1903) verified the previous observations of Hiltner. De Rossi (1907) called attention to the stearin drop-like appearance of the colonies on culture media, and experienced considerable difficulty in staining for flagella on account of the amount of adherent slime. According to Harrison and Barlow (1907) the colonies may be drawn out into long threads when they are touched with a platinum needle, and microscopic examination shows the bacteria to be imbedded in a mass of mucilage.

The work of Mazé has been displaced from its chronological position as it requires a more extended notice. In his first paper (1897) the observation is recorded that the colonies on sugar agar are mucilaginous and sticky. In a liquid medium containing 2 % of saccharose the organism produces a very marked viscosity, so that in two weeks the medium becomes semi-solid. In a later paper (1898) he gives the results of a series of studies on the utilization of sugar in media as related to the fixation of nitrogen and the development of viscosity. It was found that in a favorable medium all of the sugar disappears in from two to three weeks, though there is no accumulation of volatile and fixed acids. The respiration if the organism is exceedingly active, and within two or three weeks most of the carbon of the sugar has passed off in the form of

carbon dioxide. In exchange, however, there is a decided gain in the nitrogen content of the solution in the form of a mucus which is often so abundant that the medium is rendered gelatinous. He concludes that any resemblance to the various viscous fermentations of sugar is wholly superficial. In other viscous fermentations there is an isomeric change in the sugar, but with this organism there is an almost perfect combustion. He concludes that the mucus is not an allotropic modification of the sugar, but a nitrogenous compound elaborated by the legume organism. He says "Comme nous avons montrés, d'autre part, que la mucosité ne résulte pas d'une modification allotropique du sucre, nous sommes conduit à la regarder comme un composé azoté élaboré par le bacille des légumineuses. Dans la série des transformations, aux quelles le saccharose est soumis il se forme des composés capables de s'unir à l'azote atmosphérique grâce à l'énergie mise en jeu par la dislocation de la molécule de sucre." He concludes that the same phenomenon should take place in the roots of the legumes, but examination showed that such slime or gum was not ordinarily present. But from this, he reasons, we are not to conclude that it is not developed. It is taken up by the legume, and the symbiotic relationship between the legume and the organism is thus explained. He says "Si on ne constate pas la présence dans les tubercules, c'est sans doute parce qu'elle est entraînée par la sève à mesure qu'elle se produit, et c'est probablement elle qui sert de trait d'union entre le microbe et la plante." To demonstrate this point however, it was necessary to show that the physical characters of the gum would not prevent such diffusion as must take place through the cell membranes if the plant is to make any use of it. Filtration of cultures through a Chamberland filter allowed about one tenth of the total nitrogen of the solution to pass. A culture diluted with twice its volume of water was dialyzed in parchment paper for eighty four hours and a loss of five per cent of the total nitrogen was observed. On the other hand, with a culture diluted with eight times its volume of water he found that about twenty five per cent of the nitrogen passed through, and that the liquid lost most of its viscosity. From this he concludes that diffusion occurs more rapidly in dilute solutions than in concentrated. The mucus is analogous to the substances produced by fermentation, such as alcohol and acetic acid, that are incapable of serving as nutrients for the organism that produce them, yet they may serve as food for other forms.

Mazé's paper above outlined is practically the only discussion of the subject that is to be found in the literature. Upon his findings he builds a theory of the utilization of nitrogen by the legumes. However, it seems evident from the results of the work outlined in this paper, that he has erred in several important particulars in the premises on which his conclusions are based. He has taken the fact of the simultaneous production of this mucus or gum and the fixation of nitrogen in this solution as a proof of the presence of organic or combined nitrogen in the gum itself. There is no record of any test or analysis that would prove that the mucus really was nitrogenous in nature. Tests to determine a point of this kind should be made upon a material as free as possible from an admixture of foreign substances. When it is so prepared by repeated precipitations and washings, it is found in fact that no combined nitrogen can be demonstrated to be present. This is true, even, as will be shown later, when the organism is grown in a

solution containing a high percentage of organic nitrogen. It is very evident then, that it cannot be from an absorption of this mucus that the plant derives its nitrogen from the bacteria. Even in the experiments of Mazé himself the fact that such a small percentage of the nitrogen of the solution passed through the pores of the filter would indicate that any of the gum which passes through would be non-nitrogenous. It may be noted at this point also, that repeated efforts in the laboratory to filter this gum under pressure through the pores of the Berkefeld filter have failed. Even after the lapse of twenty four hours the liquid which passed through gave no precipitate when alcohol was added, showing that the gum certainly passes through with great difficulty or not at all. Mazé's demonstration of the relation between the loss of mucus in dialysis and the simultaneous loss of nitrogen is by no means convincing. In my own experiments I have never succeeded in getting the gum to dialyze through either parchment paper or through celloidin sacs. It is very improbable then, that this material could pass through the cell membranes, and be taken up by the plant in any form. In fact, there is no evidence in the work which Mazé has recorded that there is any fixation of nitrogen outside of the cell protoplasm itself. The conclusion that the gum is not similar to that produced by other bacteria is also contrary to the facts. As has been shown, it is probably very closely related to some of these and produced in the same manner.

Morphological origin of the gum.

Bacillus radicicola in a nutrient medium containing suitable carbohydrates or other material favoring gum production does not at first show any trace of adherent mucilaginous material. Within a few hours or days each organism surrounds itself by a definite capsule, its thickness becomes variable, and eventually several times that of the cell itself. At first the capsules are quite distinct, but they soon lose their definite outline and become diffluent, so that after a time the organisms are embedded in a common mass of mucus or gelatin. The substance of the outer portion of the cell wall evidently swells very greatly with water, at last passing more or less completely into solution. The production of this gum is by no means a function of the luxuriance of the growth of the organism, for certain media in which the organism multiplies rapidly are not suitable.

Investigators have formulated various theories of gum production, particularly with reference to morphological origin. Gums have been described in a few instances to be the result of a true fermentation of carbohydrates by certain bacteria. Béchamp (1881), Ritsert (1891) and Bräutigam (1891) concluded that such was the derivation in at least a certain proportion of cases. Leichmann (1894) could find no swelling of cell walls in the micrococcus studied by him, yet it is described as producing a true slimy fermentation of the sugar. Duclaux (1901) contends that there is a true synthetic process resulting in the formation of the gum. The ferment is not necessarily extra-cellular, for emphasis is laid upon the fact that in all the so-called analytic fermentations a certain part of the radical is built up and utilized by the organism; there are then coordinate and simultaneous analyses and syntheses. This statement of the case, however, does not assist materially in formulating a graphic conception of the exact process.

The mere mass of the bacterial cells in a given volume of the viscous solution has been regarded by Sato (1907) as the cause of ropiness in milk inoculated with the diplococcus of slimy milk studied by him. The absence of a definitely staining capsule or mucilaginous envelope was noted, and also the fact that morphologically the organism appeared to be identical in all solutions regardless of the development of viscosity. No swelling of the cell wall could be demonstrated in any case, and he concludes that the cell walls of morphologically similar organisms would not swell in one medium and not in another.

In the majority of cases, however, the slimes and gums have been determined to be the result of a swelling or solution of the cell wall or bacterial capsules. Duclaux (1887) described from slimy milk a capsulated rod. In B. viscosus I and II van Laer (1889) believed the gum to be derived from a swelling carbohydrate constituent. Kramer (1889) came to the same conclusion in working with B. viscosus sacchari and vini. Ratz (1890) noted the presence of a faintly staining capsule about the coccus causing slimy milk. Héry (1891) for a similar organism and Adametz for B. lactis viscosus described the solution of capsules. Marpmann (1892) in a résumé of the subject came to the conclusion that in certain forms, at least, viscosity was developed as the result of solution of the capsules. Ward (1892) demonstrated the causal relationship existing between the capsule of the Bacterium vermiforme and the viscosity which developed in ginger beer. Happ (1893) insists that a polymerization of sugar to form gums extracellularly is impossible, and that they result in very instance from a solution of the capsule. The B. viscosus III of Vandam (1896) the Micrococcus viscosus of Orth (1899), the "sugar bacterium" of Ward and Green, B. lactis aerogenes according to Schardinger (1902), the B. viscofucatum of Harrison and Barlow (1905), the Semiclostridium commune of Maassen, all have been described as giving rise to viscous fermentation or gum production by the solution of the capsules. The streptococci responsible for the Froschlaich of the sugar vats have also immensely thickened capsules (Liesenberg and Zopf 1892 and Zettnow 1907).

It seems but fair to conclude from this array of evidence that there is great probability that bacterial slimes and gums of whatever kind are produced as a transformation or solution of the bacterial capsules. In the cases where this has been denied the negative evidence has usually been the failure to demonstrate by the use of stained mounts. This is scarcely conclusive proof, for it has been shown by Koch and Hosaeus (1894) that in Bacterium pediculatum the slimy capsule which could be easily demonstrated in unstained preparations was entirely dissolved by the heat of fixation.

Since, then, this method of gum production seems so general, it may be well to note the theories as to the nature and origin of this capsule. Migula (1897) conceives of this structure as being protoplasmic in nature, and existing as a thicker or thinner layer on the outer portion of the cell wall of all bacteria. Flagella as seen in stained preparations seem to originate from this layer, and inasmuch as these are certainly protoplasmic, the conclusion is that the capsule must be the same. The point is also made that the cell wall of bacteria is itself different in nature from those of the higher plants, being a living and not a nonliving protective covering. The nearest approach that he finds to a

true cell wall among the bacteria in the sense the term is used for the higher plants is in the sheath that is produced about the entire filaments in certain forms. His reasoning does not appear entirely convincing for the following reasons. First, the fact that the flagella in stained preparations are colored as is the capsule and seem to originate from it is certainly not an entirely reliable differential character. The difficulty of seeing flagella at all, and the almost insuperable difficulty of following them through a layer of slimy substance staining similarly would seem to throw doubt on his interpretation of their attachment. Second, by the use of plasmolyzing agents, the protoplast of the bacterial cell may be caused to withdraw entirely from the cell wall, and there is consequently every reason to suppose that it is surrounded by an Hautschicht just as is the protoplast of the higher forms. It certainly does not seem probable that the protoplast is made up of several concentric layers separated from each other by semi-permeable membranes, as Migula's theory would seem to predicate. Third, the relationship of the bacteria to certain of the blue green algae is certainly very close. Among these latter forms there are some as the Gloeocapsa that produce very thick capsules. When a cell divides, the capsule of the mother cell does not divide at the same time, but the two daughter cells, each invested in its own capsule, remain within that of the parent cell. This latter, however continues to grow. That a group of such cells should remain invested in a common layer of protoplasm seems exceedingly improbable.

This example of the encapsulated cells of the Gloeocapsa may, perhaps, be helpful in interpreting the production of bacterial slimes. The manner in which plant cells increase in area and thickness has been long and carefully studied. That new material formed by the contained protoplast is continually incorporated into the structure of the cell wall is undoubtedly true. There is no good reason for believing that the protoplasm of the cell permeates the walls and lays down these materials. This certainly would be difficult to understand in such a form as Gloeocapsa where a cell may be surrounded by three or even more distinct capsules derived from various cell ancestors and all continuing to grow. There must be in such cases (Jost) a continuous movement outward through the cell wall of the materials that have been elaborated by the protoplast, and a growth in thickness aud area of the capsule and wall by interpolation. If this material be insoluble after deposition, the cell wall would then be well defined; if capable of swelling in water, then a very definite capsule would be developed; and if soluble in water, either at once or after a time, a viscous solution might develop. It is unnecessary to believe that the inner cell wall is of the same composition as the outher portion or the capsule, for among higher plants the outer portion of the cell wall is not infrequently differentiated.

The widely accepted view that the bacterial cell wall is nitrogenous in nature would not militate against the view that the outer portion or capsule consists of a pure carbohydrate. In fact, van Laer came to the conclusion that the cell walls of the organisms studied by him were nitrogenous, but that there was present a swelling carbohydrate „Zwischensubstanz". It would seem that the only feasible method of testing the chemical composition of the cell wall of the bacteria is by micro-chemical means. Gross analyses fail to take account of the nitrogenous cell content of protoplasm. That a positive determination of the presence of nitrogen in the cell wall is difficult is self evident, and in many

cases we have no conclusive evidence that the bacterial walls themselves are not composed of carbohydrate derivatives of the same general nature as the capsule.

Variation in gum production by B. radicicola from different hosts.

One evidence of the gum formation of the Bacillus radicicola is to be found in the extreme viscidity developed by the colonies when growing on a solid medium containing a suitable carbohydrate. The medium used in the experimental work described below is a follows:

Agar	10,00 g
Tap water	1000,00 c. c.
Saccharose	20,00 g
Potassium dihydrogen phosphate	00,20 „
Magnesium sulfate	00,01 „

Plates of this medium were poured from the nodules of various legumes. The colonies are visible at the end of from three to five days as almost microscopic translucent dots. The surface colonies rapidly increase in size until they are eight to ten mm in diameter. They are considerably elevated, a cross section often being semicircular. They are somewhat milky and opalescent at first, later clear and watery. When touched with a needle filaments a foot in length may often be drawn out. A microscopic examination shows that the bacteria are imbedded in an abundant matrix of slime.

Cultures were made in this manner from a considerable number of legumes to determine whether or not there is any essential difference as to the production of the gummy or slimy material among the organisms derived from this variety of sources. It has been found that this same production of slime does occur in every race tried.

It will be noted that in the list of legumes following, representatives from a number of the subdivisions of the family have been tried; and it may fairly be held the Bacillus radicicola from whatever host produces this gum under proper conditions.

List of legume nodules tested. Caesalpinoideae: Cercis canadensis, Cassia chamaecrista, Gleditschia triacanthos. Papilionatae: Podalyrieae — Baptisia sp., Genisteae – Lupinus perennis, L. arboreus, L. sp., Trifolieae — Medicago sativa, M. lupulina, Melilotus alba, M. officinalis, Trifolium procumbens, T. repens, T. hybridum, T. incarnatum, T. pratense, Galegeae — Amorpha canescens, A. fruticosa, Dalea alopecurioides, Kuhnistera purpureus, K. candidus, Robinia pseudacacia, Astragalus canadensis, Hedysareae — Ornithopus sativus, Onobrychis sativus, Arachis hypogea, Desmodium canadense, Viceae — Vicia americana, V. sativa, V. faba, V. villosa, Lens esculenta, Lathyrus odoratus, L. latifolius, Pisum sativum, Phaseoleae — Amphicarpea monoica, Apios tuberosa, Phaseolus lunatus, P. vulgaris, Dolichos lab-lab, and Vigna sinensis.

To determine the constancy of this character of gum formation in liquid media, a preliminary trial was made with the organisms from the roots of Phaseolus vulgaris, Vicia americana, Amorpha canescens and Kuhnistera candida in several solutions containing carbohydrates. Each of the four organisms produces about the same

amount of gum under the same conditions, showing that at least these four races possess this property.

A more extensive test was carried through with organisms from a greater variety of sources. In connection with a series of experiments to be described later, the gum production was determined for a number of forms under different conditions of nutrition. The following list of organisms was used, Bacillus radicicola isolated in the laboratory from the root nodules of the Trifolium hybridum, Lathyrus odoratus, Phaseolus vulgaris, Kuhnistera candida, Lupinus arboreus, Vicia villosa and V. faba and as a control, cultures from the root nodules of the Medicago sativa and Trifolium pratense obtained through the courtsey of Prof. C. E. Marshall and Walter G. Sackett of the Michigan Agricultural College and from Pisum sativum secured from the Bureau of Plant Industry of the Department of Agriculture. In all, some three hundred combinations of nutrients were tested with these ten races with the result that in some of the solutions used the gum was produced by all the cultures. Differences, however, were to be noted in single solutions in the amount of gum produced by each of the various types.

Symbiosis and gum production.

Mazé (1898) claims that if old cultures of B. radicicola are plated there develop two types of colonies, the organisms of neither alone being capable of causing viscosity in nutrient media. When the two organisms are seeded together, however, there develops an abundance of slime. No evidence in support of these conclusions can be drawn from the present work. Platings from cultures of all ages were made many times, but the two types of colonies were not encountered. All inoculations into the liquid media enumerated above were made from cultures that had been several times plated, and in which but one sort of colony was to be observed. It is certain, then, that a single type was used, yet gum production was evident and abundant in many cases.

Development of gum in various nutrient solutions.

Although B. radicicola has been many times cultivated in nutrient solutions, no systematic attempt to determine the exact conditions which are essential to the production of its gum has been recorded. As a contribution to this topic there are here presented the results obtained in the cultivation of the organisms previously listed in a considerable number of nutrient solutions. In all about three hundred solutions were used.

All solutions were prepared in lots of one hundred c. c., heated to the boiling point, cooled and filtered. Sterilization was effected by flowing steam for twenty minutes on each of three successive days. All media were retained at room temperature for a week to guard against the use of contaminated tubes. Unless otherwise mentioned, the basis of the culture medium in every case was a salt solution of the following composition

Potassium dihydrogen phosphate	0,2	g
Magnesium sulfate	0,01	„
Distilled water	100,00	„

Kahlbaum's reagents were used in all cases where there is no statement to the contrary.

In a few cases the organisms derived from the root nodules of the Phaseolus vulgaris alone were used, in most cases, however, the entire list of ten organisms was inoculated.

The final examination of the cultures was made five weeks after inoculation. The presence and the relative amount of gum were determined by filling the culture tubes with 95 % alcohol, when the gum present rose to the surface as a gelatinous, frothy mass. This gum, in many cases was tested with Fehling's solution both before and after hydrolysis at 120° C for one hour, and the biuret test applied. In all cases before examination the gum was purified by five solutions in distilled water and precipitation by alcohol.

In those solutions in which a considerable amount of gum is produced, a marked degree of viscosity may appear with very little clouding or precipitate. After a time, however, as the amount of viscosity increases the medium becomes cloudy or milky and a white zoogloeal mass of gelatioous consistency settles to the bottom, or appears in the form of a ring or a pellicle at the surface. In some cases this gelatinization of the medium proceeds until, in colorless solutions in particular, a very characteristic appearance is developed, reminding one of a thick, partially precipitated solution of silicic acid.

The various media used are grouped according to the carbon nutrients used.

Salts of the organic acids.

± = A very slight viscosity of medium with a slight trace of gum.
\+ = Very slight gum production.
++ = Considerable gum production, the medium being somewhat gelatinous.
+++ = A very large amount of gum produced, the medium very gelatinous.
— = No gum developed.
0 = Solution not tested or contaminated.

Table I. Salts of the organic acids.

Source of cultures	Ammonium formate			Sodium butyrate				Calcium butyrate			Potassium butyrate			Potassium valerianate		
	1 %	2 %	5 %	0,5 %	1 %	2 %	1 % + 0,5 % Ammonium phosphate	0,5 %	1 %	2 %	0,5 %	1 %	2 %	0,5 %	1 %	2 %
Lupinus arboreus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Medicago sativa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Trifolium pratense	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kuhnistera candida	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Vicia faba	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Vicia villosa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lathyrus odoratus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pisum sativum	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Phaseolus vulgaris	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Source of cultures	Sodium succinate		Calcium lactate				Ammonium tartrate			Ammon. citrate	Sodium citrate	
	1 %	1 % + 0,5 % Ammonium phosphate	0,5 %	1 %	2 %	1 % + 0,5 % Ammonium phosphate	0,5 %	1 %	2 %	1 %	1 %	1 % + 0,5 % Ammonium phosphate
Lupinus arboreus	+	+	—		—	—	±	—	—	+	—	—
Medicago sativa	+	+	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—
Trifolium pratense	—	+	0	0	0	0	0	0	0	+	—	—
Kuhnistern candida	+	+	0	0	0	0	0	0	0	+	—	—
Vicia faba	+	+	0	0	0	0	0	0	0	+	—	—
Vicia villosa	+	+	0	0	0	0	0	0	0	+	—	—
Lathyrus odoratus	—	—	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—
Pisum sativum	—	+	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—
Phaseolus vulgaris	—	—	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—

B a c i l l u s v i s c o s u s I and II (v a n L a e r 1889) produce their characteristic gums with calcium lactate and with ammonium tartrate as the only carbon sources.

The gum produced by B. r a d i c i c o l a in the solutions containing 1 % sodium succinate with and without ammonium phosphate, reduced F e h l i n g's solution only after hydrolysis at a temperature of 120° C. The biuret test was negative.

C o n c l u s i o n. It is probable that a considerable number of the salts of the organic acids are a suitable source of carbon for the development of gum. The gum is very similar to that already described.

G l y c e r i n.

Table II. Glycerin.

Source of cultures	1 %	1 % + 0,5 % Ammonium phosphate	3 %	5 %	5 % + 0,5 % Ammonium phosphate
Lupinus arboreus	++	++	++	++	++
Medicago sativa	±	+	±	±	—
Trifolium pratense	+	+	±	±	—
Kuhnistera candida	++	++	++	++	++
Vicia faba	++	++	++	++	++
Vicia villosa	++	++	++	++	++
Lathyrus odoratus	+	±	±	±	—
Pisum sativum	±	±	±	±	—
Phaseolus vulgaris	+	±	±	±	—

The gum from solutions of glycerin both with and without ammonium phosphate reduces F e h l i n g's solution only after hydrolysis, and fails to give the biuret test.

An examination of the literature has failed to show a record of any organism capable of causing a viscous fermentation of glycerin. V a n L a e r (1889) found that neither B. v i s c o s u s I or II could produce gum from glycerin, and M a a s s e n (1905) found the same to be true for S e m i c l o s t r i d i u m c o m m u n e.

Conclusions. B. radicicola seems to be unique among organisms described in its ability to produce a gum with glycerin as the only carbon source. The presence of ammonium phosphate seems to stimulate growth and gum production in some cases. So far as was determined, the gum appears to be identical with that formed in saccharose solutions already described.

Asparagin and sodium asparaginate.

Table III. Amino-acids.

Source of the organisms	Asparagin		Sodium asparaginate
Lupinus arboreus	±	±?	±
Medicago sativa	—	—	—
Trifolium pratense	—	—	—
Kuhnistera candida	—	—	±
Vicia faba	±	±	±
Vicia villosa	±	±	±
Lathyrus odoratus	—	—	—
Pisum sativum	—	—	±
Phaseolus vulgaris	—	—	—

Conclusions. Asparagin and sodium asparaginate, while favoring the growth and multiplication of the organism do not serve as a suitable source of carbon for gum production.

Urea.

In solutions containing carbon only in the form of urea, there appeared no perceptible growth, and no gum was produced.

Glucosides.

Table IV. Glucosides.

Source of cultures	Amygdalin		Salicin	
	2 %	2 % + 0,5 % Ammonium phosphate	2 %	2 % + 0,5 % Ammonium phosphate
Lupinus arboreus	++	+	++	+
Medicago sativa	+	—	++	—
Trifolium pratense	++	—	++	—
Kuhnistera candida	++	—	++	—
Vicia faba	++	+	++	+
Vicia villosa	++	+	++	+
Lathyrus odoratus	+	—	++	—
Pisum sativum	+	—	++	—
Phaseolus vulgaris	±	—	±	—

The gums produced in each of the above solutions reduce Fehling's solution only after hydrolysis, and do not give the biuret reaction.

Conclusions. The glucosides amygdalin and salicin are suitable carbon sources for production of gum. The addition of ammonium sulfate seems to prevent the development of the gum in most instances. The gums produced are of the same nature as those already described.

Several organisms have been described, notably the Bacterium gliscrogenum of Malerba (1891), that are capable of producing gum-like nitrogenous slimes from peptone solutions.

Peptones.

Table V. Peptones and nutrose.

Source of cultures	Nutrose								Witte's peptone			
	0,1 %	0,5 %	1 %	2 %	5 %	1 % + 0,5 % Ammonium phosphate	1 % + 0,5 % Ammonium tartrate	1 % + 1 % Asparagin	1 %	1 % + 1 % Asparagin	1 % + 1 % Sodium asparaginate	1 % + 1 % KNO_3
Lupinus arboreus	—	—	—	—	—	—	—	+	—	+	+	—
Medicago sativa	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Trifolium pratense	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Kuhnistera candida	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Vicia faba	—	—	—	—	—	—	—	+	—	+	+	—
Vicia villosa	—	—	—	—	—	—	—	+	-	+	+	—
Lathyrus odoratus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pisum sativum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Phaseolus vulgaris	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Conclusions. Peptones do not constitute a favorable medium for the growth of the organism, and will permit of no gum formation.

Plant extracts.

Clover extract. Preparation. 200 g of the dried stems and leaves of Trifolium pratense were extracted in four liters of boiling tap water, the solution filtered until clear, and this used as the basis of the media discussed below.

Vetch extract. Preparation. 200 g of dry vetch stems and leaves were poiled in two liters of tap water and filtered. This extract was concentrated to one sixth of its volume by heat and several times its volume of absolute alcohol added. The filtrate was evaporated to dryness, as was also the precipitate after several washings with absolute alcohol. Each of these extracts was dissolved in 100 c. c. of distilled water and filtered. The first of these is called the alcoholic, the second the aqueous extract of the vetch. Varying amounts of these solutions were added to flasks containing 100 c.c. distilled water, and the solutions tubed.

(See Table VI p. 387.)

The gums produced in clover and in vetch extract reduce Fehling's solution only after hydrolysis, the biuret test is negative.

Conclusions. The clover extract, the aqueous extract of the vetch and the alcoholic extract of the vetch in lower dilutions all favor the production of gum. Peptone and to a less degree asparagin and sodium asparaginate have an inhibiting effect. The gum is identical with that produced in saccharose.

Fluid extracts of legumes.

The fluid extracts of legumes were purchased from Parke Davis and Co. as standard fluid extracts. Each solution was boiled until all alcohol present had evaporated, the quantity again made up to 100 c.c. and the

Table VI. Clover and vetch extract.

Source of cultures	Clover extract										Vetch extract								
	Alone	0,2 % KH_2PO_4 + 0,1 % $MgSO_4$	0,5 % Ammonium phosphate	1 % Asparagin	1 % Sodium asparaginate	Peptone					Aqueous extract				Alcoholic extract				
						0,1 %	0,5 %	1 %	2 %	5 %	0,01 %	0,1 %	0,2 %	1 %	0,1 %	0,5 %	1 %	2 %	5 %
Lupinus arboreus	+	+	—	+	+	+	±	—	—	—	—	++	++	+	+	+	+	+	—
Medicago sativa	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	++	++	+	—	—	·	—	—
Trifolium pratense	+	+	—	—	—	+	—	—	—	—	—	++	++	+	—	—	—	—	—
Kuhnistera candida	+	±	+	—	—	±	—	—	—	—	—	++	++	+	+	—	—	—	—
Vicia faba	·	+	+	+	+	±	±	—	—	—	—	++	++	+	+	+	+	+	—
Vicia villosa	+	+	+	+	+	±	±		—	—	—	++	++	+	+	+	+	+	—
Lathyrus odoratus	—	+	—	+	+	—	—	—	—	—	—	++	++	+	+	—	—	—	—
Pisum sativum	+	+	+	—	—	±	—	—	—	—	—	++	++	+	—	—	—	—	—
Phaseolus vulgaris	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	++	++	+	—	—	—	—	—

portions insoluble in water filtered out. These were added in varying amount to the salt solution.

Table VII. Fluid extracts of legumes.

Source of cultures	Tolu					Catechu					Physostigma					Red clover Blossoms		
	Percent					Percent					Percent					Percent		
	10	5	2	1	0,1	10	5	2	1	0,1	10	5	2	1	0,1	2	1	0,1
Lupinus arboreus	++	++	++	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	±	+	±	±	—
Medicago sativa	+	·	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Trifolium pratense	+	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Kuhnistera candida	++	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—
Vicia faba	++	++	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	±	±	±	±	—
Vicia villosa	++	++	+	+	+	—	—	—	—	+	—	—	—	±	±	±	±	—
Lathyrus odoratus	+	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—
Pisum sativum	+	+	+	±	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Phaseolus vulgaris	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Source of cultures	Glycyrrhiza					Kino				Baptisia					Senna				Scoparius				
	Percent					Percent				Percent					Percent				Percent				
	10	5	2	1	0,1	10	5	1	0,1	10	5	2	1	0,1	10	5	1	0,1	10	5	2	1	0,1
Lupinus arboreus	—	+	+	+	—	—	—	—	+	++	+	+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—
Medicago sativa	—	—	+	+	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—
Trifolium pratense	—	—	+	+	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—	+	+	-	—	—	—	—	—
Kuhnistera candida	—	—	—	—	—	—	—	—	—	++	+	+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—
Vicia faba	—	—	+	+	—	—	—	—	+	++	+	+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—
Vicia villosa	—	+	+	+	—	—	—	—	+	++	+	+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—
Lathyrus odoratus	—	—	+	+	-	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—
Pisum sativum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—
Phaseolus vulgaris	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—

Conclusions. Suitable substances for the production of gum are present in Tolu, Red clover Blossoms, Glycyrrhiza, Kino, Baptisia and Senna. Catechu, Physostigma, Scoparius and Kino (in higher concentrations) are unsuitable. Considerable variation is to be noted in the capa-

city for gum production exhibited by organism from different sources. The gum produced is in every case of the same character as that from saccharose.

Carbohydrates.

The effect of differences in carbohydrate nutrition on the production of gum was determined, using the organism from Phaseolus vulgaris. The basis of the medium was a soil infusion prepared by boiling 100 g of rich garden soil in one liter of tap water, and filtering until clear. To this was added 2 % of the various carbohydrates tested. It will be noted in the following table that gum was produced in every instance, though in varying amounts.

Table. VIII.

Carbohydrate used	Notes on production of gum
Dextrose	Produced abundantly
Levulose	Abundant
Galactose	Slight production of gum
Maltose	Next to saccharose, this sugar seems to be the most favorable for the production of gum
Saccharose	Developed a very marked viscosity in four days, sooner by several days than in any other sugar, and the gum is found to be present in larger amounts
Lactose	Good growth, abundant gum
Mannite	Considerable gum

A more extended trial of the ability of the organism to produce a gum from various carbohydrates was then undertaken, using the entire list of cultures before enumerated. The carbohydrates were used alone and in combination with other materials.

(See Table IX p. 389.)

The gum produced in each of the carbohydrate solution showed the same general characters. Fehling's solution was reduced only after hydrolysis and the biuret test was negative.

Conclusions. All the carbohydrate solutions tested are suitable media for the production of gum, although in somewhat varying degree. The addition of ammonium sulfate has a distinctly favorable effect on certain cultures, and inhibits the growth to a greater or less degree in others.

No record of any organism producing a gum with arabinose has been noted in the literature. The same is true for rhamnose, mannose, galactose, inosit and melitose.

Many organism have been reported to produce a gum from dextrose. Among them are the following: Micrococcus viscosus (Pasteur 1861), Bacillus viscosus bruxellensis (van Laer 1900), Bacillus viscosus vini (Kramer 1889), B. polymyxa and B. tumescens (Zopf), Bact. pediculatum (Koch and Hosaeus 1894), Leuconostoc dissiliens (Pitoy), Leuconostoc mesenteroides (van Tieghem 1878), L. indicum (Liesenberg and Zopf 1892), Bact. vermiforme (Ward 1892). Organisms that produce viscous fermentation of other sugars but not dextrose are B. viscosus sacchari (Kramer 1889), B. spongiosus (Ruhland 1906), B. gummosus (Happ 1893), M.

Table IX. Carbohydrates with and without ammonium sulfate.

Source of cultures	Arabinose 2 %	Arabinose 2 + 0,5 % Ammonium phosphate	Rhamnose 1 %	Rhamnose 2 + 0,5 % Ammonium phosphate	Dextrose 2 %	Dextrose 2 + 0,5 % Ammonium phosphate	Mannose 2 %	Mannose 2 + 0,5 % Ammonium phosphate	Galactose 2 %	Galactose 2 + 0,5 % Ammonium phosphate	Levulose 2 %	Levulose 2 + 0,5 % Ammonium phosphate	Inosit 2 %	Inosit 2 + 0,5 % Ammonium phosphate
Lupinus arboreus	+	+++	±	+	+	++	++	+++	++	+	0	0	+	0
Medicago sativa	+	+	±	−	+	++	+	±	+	−	0	0	+	0
Trifolium pratense	+	−	−	−	+	−	+	−	+	++++	0	0	±	0
Kuhnistera candida	+	+++	+	++	+	++	+	++	−	++	0	0	++	0
Vicia faba	++	+	+	++	+	+++	+	+++	+	+	0	0	+	0
Vicia villosa	++	+++	++	+++	+	+++	+	+++	+	+++	0	0	+	0
Lathyrus odoratus	++	−	+	−	+	−	±	−	+	−	0	0	+	0
Pisum sativum	++	−	−	±	+	−	+	−	+	−	0	0	+	0
Phaseolus vulgaris	±	−	±	−	+	−	−	−	−	−	+	0	−	0

Source of cultures	Saccharose 2 %	Saccharose 2 + 0,5 % Ammonium phosphate	Maltose 2%	Maltose 2 + 0,5 % Ammonium phpsphate	Lactose 2 %	Lactose 2 + 0,5 % Ammonium phosphate	Raffinose 2 %	Raffinose 2 + 0,5 % Ammonium phosphate	Mannite 2 %	Mannite 2 + 0,5 % Ammonium phosphate	Melitose 2 %	Melitose 2 + 0,5 % Ammonium phosphate	Inulin [1]) 2 %	Inulin [1]) 2 + 0,5 % Ammonium phosphate	Starch [1]) 2 %	Starch [1]) 2 + 0,5 % Ammonium phosphate
Lupinus arboreus	+	+	+	+++	+	++	+	−	++	+++	+	++	[1])	[1])	[1])	[1])
Medicago sativa	+	−	−	+	+	−	+	−	+	++	−	++				
Trifolium pratense	+	+	+	−	+	−	−	−	++	−	−	−				
Kuhnistera candida	+	+	+	+++	+	++	+	++	+	±	+	++				
Vicia faba	+	+++	+	++	+	++	+	++	+++	+++	+	+++				
Vicia villosa	+	+++	+	++	+	++	+	+	+	+++	+	+++				
Lathyrus odoratus	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−				
Pisum sativum	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−				
Phaseolus vulgaris	+	−	±	−	+	−	+	−	+	−	+	++				

1) Gum produced in most cases. Impracticable to determine accurately, as inulin and starch are precipitated by the alcohol.

gummosus (Happ 1893), Streptococcus aller (Zettnow 1907) and Semiclostridium commune (Maassen 1905).

B. spongiosus (Ruhland 1906), Bact. acaciae (Smith 1905), and a variety of B. viscosus (Delafond 1898) produce gum from levulose, while Semiclostridium commune (Maassen 1905) cannot utilize levulose in this manner.

The following organisms are recorded as producing gum from saccharose: Leuconostoc mesenteroides (van Tieghem 1878), B. viscosus sacchari (Kramer 1889), M. gelatigenosus (Bräutigam 1891), B. gummosus (Happ 1894), Bact. gummosum (Ritsert 1891), M. viscosus (Orth 1899), Bact. gelatigenosum betae (Glaser 1905), Clostridium gelatigenosum (Laxa), Streptococcus hornensis (Boekhout 1900), S. aller, S. opalinitza (Zettnow 1907), B. panificans (van Laer 1885), Bact. vermiforme (Ward 1892), Semiclostridium commune (Maassen 1905).

The following organisms produce gums from maltose. B. viscosus I—IV (van Laer 1898), B. gelatigenosus betae (Glaser 1895). Leuconostoc mesenteroides does not produce a gum from maltose (Liesenberg and Zopf 1892).

The following organisms are recorded as producing gum from lactose: Micrococcus (Schmidt-Mühlheim 1883), B. viscosus I and II (van Laer 1889), M. gummosus (Happ 1894), Bact. lactis longe (Peterson 1900), Coccus lactis viscosi (Gruber 1903), B. lactorubefaciens and Carphococcus pituitocarpus (Hohl 1902). The following produce gums with other sugars but not with lactose Leuconostoc mesenteroides (Liesenberg and Zopf 1892), B. viscosus sacchari and vini (Kramer 1889), Bact. vermiforme (Ward 1892) and Semiclostridium commune (Maassen 1905).

Bacillus spongiosus (Ruhland 1906) produces a gum from raffinose, while Semiclostridium commune (Maassen 1905) does not.

B. spongiosus (Ruhland 1906 produces a gum from mannite, while Semiclostridium commune (Maassen 1905) does not.

Table X. Saccharose in various concentrations.

Source of cultures	Per cents of saccharose in salt solution										
	0,1 %	0,2 %	0,5 %	1 %	2 %	5 %	10 %	15 %	20 %	30 %	50 %
Lupinus arboreus	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	—
Medicago sativa	+	—	+	+	+	+	+	—	—	—	—
Trifolium pratense	—	—	—	—	—	+	—	+	+	—	—
Kuhnistera candida	+	—	+	++	++	++	+	+	+	—	—
Vicia faba	+	+	+	++	++	++	++	+	+	±	—
Vicia villosa	+	+	+	+	++	++	++	+	++	+	—
Lathyrus odoratus	—	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—
Pisum sativum	—	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—
Phaseolus vulgaris	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—

There is to be noted in this table a considerable difference between the optimum concentrations among the various organism. The optimum for the majority is about 2 %. The maximum is 30 % for three cultures, 20 % for four, the remainder being below 20 %. The amount of gum formed is in no case, even in the lower dilutions, proportional to the amount of sugar present. Mazé's conclusion that gum production does

not occur in concentrations above 2 % certainly does not hold for the cultures studied.

Various other bacteria have been shown to produce gum in considerable concentrations of sugar. Streptococcus mesenteroides (van Tieghem 1878) grows in solutions containing more that 20 % of sugar. B. gummosus (Ritsert 1891) has an optimum of 10 %, but will develop in 60 % solutions. Boekhout determined that the organism described by him produced a small amount of dextran in 4 % solutions, but the amount was much greater with 8–40 %. For Bact. acaciae Smith (1905) found an optimum of 2 % levulose, and for Semiclostridium commune Maassen (1905) determined the optimum to lie between 10 % and 25 %, although growth was still vigorous at 50 %.

Effect of reaction. 1 % of normal malic or citric acid is sufficient to completely inhibit growth. 1 % of normal sodium hydrate stimulates growth and the production of gum, but 2 % completely prevents growth.

Table XI. Effect of potassium nitrate in 2 % saccharose.

Source of cultures	The following percents represent cc. of 10 % KNO_3 added to 100 c. c. of 2 % saccharose in salt solution						
	1/20	1/10	1/5	1/2	1	2	5
Lupinus arboreus	+	+	+	+	+	++	+
Medicago sativa	+	+	+	±	+	±	+
Trifolium pratense	+	+	+	+	+	+	±
Kuhnistera candida	+	+	+	+	+	++	+
Vicia faba	+	+	+	+	++	+	++
Vicia villosa	+	+	+	+	++	+	++
Lathyrus odoratus	+	+	+	+	±	+	—
Pisum sativum	+	+	+	+	+	+	—
Phaseolus vulgaris	+	+	+	+	±	—	—

Table XII. Effect of potassium nitrate in 2 % saccharose in clover extract.

Source of cultures	The following percents represent c. c. of 10 % KNO_3 added to 100 ccm of 2 % saccharose in clover extract						
	1/20	1/10	1/2	1	2	5	10
Lupinus arboreus	++	++	++	++	+	++	++
Medicago sativa	+	+	+	+	+	++	+
Trifolium pratense.	+	+	+	++	+	—	—
Kuhnistera candida	++	++	+	±	++	+	—
Vicia faba	++	++	++	++	++	++	++
Vicia villosa	+++	++	+	++	++	++	++
Lathyrus odoratus	+	+	+	++	++	—	—
Pisum sativum	++	+	±	++	++	++	—
Phaseolus vulgaris	+	+	++	++	+	++	—

Conclusion. Potassium nitrate except in large amounts has little effect on growth and on gum production in B. radicicola. This would indicate that these forms when present in the soil would be little influenced by nitrates added as manures.

(See Table XIII p. 392.)

Conclusions. Certain of the fluid extracts of the legumes inhibit all growth and gum production in higher concentrations, while others distinctly favor growth and gum production. The antiseptic action is

Table XIII. Effect of legume extracts in 2 % saccharose solutions.

Source of cultures	Clover	Tolu				Catechu				Physostigma				Red clover Blossom			
	Percent	Percent				Percent				Percent				Percent			
	100	10	5	1	0,1	10	5	1	0,1	10	5	1	0,1	10	5	1	0,1
Lupinus arboreus	++	±	+	+	+	—	—	—	+	—	—	+	+	+	+	+	+
Medicago sativa	++	±	+	+	+	—	—	—	±	—	—	—	+	+	+	+	+
Trifolium pratense	++	+	+	+	+	—	—	—	+	—	—	—	+	+	+	+	+
Kuhnistera candida	++	+	+	+	+	—	—	—	±	—	—	+	+	+	+	+	+
Vicia faba	++	+	+	+	+	—	—	—	+	—	—	+	+	+	+	+	+
Vicia villosa	++	+	+	+	+	—	—	—	+	—	—	+	+	+	+	+	+
Lathyrus odoratus	++	+	+	+	+	—	—	—	±	—	—	—	+	+	+	+	+
Pisum sativum	++	+	+	+	+	—	—	—	+	—	—	+	+	+	+	+	+
Phaseolus vulgaris	+	+	+	+	+	—	—	—	±	—	—	—	+	+	+	+	+

Source of cultures	Glycyrrhiza		Kino				Baptisia				Senna				Scoparius			
	Percent		Percent				Percent				Percent				Percent			
	1	0,1	10	5	1	0,1	10	5	1	0,1	10	5	1	0,1	10	5	1	1,0
Lupinus arboreus	+	+	—	—	—	++	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	±	+
Medicago sativa	+	+	—	—	—	++	+	+	+	+	—	—	+	+	—	—	±	+
Trifolium pratense	+	+	—	—	—	++	+	+	+	+	—	—	+	+	—	—	±	+
Kuhnistera candida	+	+	—	—	—	++	+	+	+	+	—	—	+	+	—	—	±	+
Vicia faba	+	+	—	—	—	++	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	±	+
Vicia villosa	+	+	—	—	—	++	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	±	+
Lathyrus odoratus	+	+	—	—	—	++	+	+	+	+	—	—	+	+	—	—	±	+
Pisum sativum	+	+	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—	+	+	—	—	±	+
Phaseolus vulgaris	+	+	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—	+	+	—	—	±	+

particularly marked with Catechu, Physostigma, Kino and Scoparius. The gum produced differs in no respect from that described for saccharosa solutions.

Table XIV. Effect of peptone in 2 % saccharose solutions.

Source of cultures	1 % peptone	1 % nutrose	The percents below represent c. c. of 10 % solution of peptone added to a 2 % saccharose solution with salts				
			0,1 %	0,5 %	1 %	2 %	5 %
Lupinus arboreus	+	—	+	++	+++	++	+
Medicago sativa	—	+	+	+	+	+	+
Trifolium pratense	—	—	+	+	+	+	+
Kuhnistera candida	—	+	+	++	+++	++	+
Vicia faba	+	+	+	++	+++	++	++
Vicia villosa	+	+	+	++	+++	++	++
Lathyrus odoratus	—	—	+	+	++	+	+
Pisum sativum	—	—	+	+	+	+	+
Phaseolus vulgaris	—	—	+	+	+	+	+

Conclusions. Small amounts of peptone increase growth and production of gum to a considerable extent, but larger amounts are distinctly inhibitory. The optimum for most cultures seems to be 1 c. c. of a 10 % solution per 100 c. c. In many cases with this concentration

the medium becomes so gelatinous that the test tube may be inverted without the medium running out. A test of the gum shows it to be of exactly the same character as that heretofore described.

Table XV. 1 % maltose in salt solution with various salts, etc.

Source of cultures	1 % Sodium succinate	1 % Ammonium citrate	1 % Sodium asparaginate	1 % Asparagin	1 % Peptone (Witte's)	100 % Clover extract
Lupinus arboreus	++	—	++	++	++	++
Medicago sativa	++	—	++	++	—	++
Trifolium pratense	+	—	+	+	—	++
Kuhnistera candida	++	+	++	++	++	++
Vicia faba	++	++	++	++	++	++
Vicia villosa	++	++	++	++	++	++
Lathyrus odoratus	+	—	+	+	—	++
Pisum sativum	+	—	+	+	—	++
Phaseolus vulgaris	+	—	+	+	—	++

Conclusions. The gum produced in each of the above solutions reduces Fehling's solution only after hydrolysis, and is negative to the biuret test. It is similar to that from saccharose.

Table XVI. Effect of fluid extracts of legumes in 1 % maltose.

Source of cultures	Tulo				Catechu				Physostigma				Red Clover Blossoms			
	Percent				Percent				Percent				Percent			
	10	5	1	0,1	10	5	1	0,1	10	5	1	0,1	10	5	1	0,1
Lupinus arboreus	—	+	++	+	—	—	—	+	—	—	—	+	+	+	+	+
Medicago sativa	—	+	+	+	—	—	—	+	—	—	—	+	+	+	+	+
Trifolium pratense	—	+	+	+	—	—	—	+	—	—	—	+	+	+	+	+
Kuhnistera candida	—	+	+	+	—	—	—	+	—	—	—	+	+	+	+	+
Vicia faba	—	+	+	+	—	—	—	+	—	—	—	+	+	+	+	+
Vicia villosa	—	+	+	+	—	—	—	+	—	—	—	+	+	+	+	+
Lathyrus odoratus	—	+	+	+	—	—	—	+	—	—	—	+	+	+	+	+
Pisum sativum	—	+	+	+	—	—	—	+	—	—	—	+	+	+	+	+
Phaseolus vulgaris	—	+	+	+	—	—	—	+	—	—	—	+	+	+	+	+

Source of cultures	Glycyrrhiza				Kino				Baptisia				Senna				Scoparius			
	Percent				Percent				Percent				Percent				Percent			
	10	5	1	0,1	10	5	1	0,1	10	5	1	0,1	10	5	1	0,1	10	5	1	0,1
Lupinus arboreus	—	—	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—	+	+	—	—	+	+
Medicago sativa	—	—	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—	+	+	—	—	+	+
Trifolium pratense	—	—	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—	+	+	—	—	+	+
Kuhnistera candida	—	—	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—	+	+	—	—	+	+
Vicia faba	—	—	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—	+	+	—	—	+	+
Vicia villosa	—	—	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—	+	+	—	—	+	+
Lathyrus odoratus	—	—	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—	+	+	—	—	+	+
Pisum sativum	—	—	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—	+	+	—	—	+	+
Phaseolus vulgaris	—	—	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—	+	+	—	—	+	+

Conclusions. Certain fluid extracts exert a marked antiseptic action in higher concentrations. The gum produced in all cases is identical with that produced from saccharose.

Summary.

1. Bacillus radicicola, when grown in suitable culture media, produces considerable quantities of gum. When grown on saccharose agar, this ability is exhibited by the organism from the root nodules of all of the forty one species of legumes tested. A trial of ten distantly related types chosen from this number shows the same to be true in fluid media.

2. The gum produced in saccharose solutions is closely related to the dextrans that have been described as produced by other groups of bacteria. This conclusion is based upon the fact that it is precipitated by alcohol, ammonium and magnesium sulfate, ammoniacal lead acetate and copper sulfate and that it hydrolyzes slowly to a reducing sugar when heated in a dilute acid solution at a temperature of 120° C. In appearance the gum produced from a great variety of carbon sources is identical with that from saccharose. Even gums from solutions containing considerable quantities of organic nitrogen in the form of peptone or asparagin fail to give the biuret reaction.

3. The gum contains no combined nitrogen, and does not dialyze readily; it cannot therefore be a nitrogenous assimilation product of the organism elaborated in the nodules and utilized by the legumes as a source of nitrogen.

4. The gum in origin is the diffluent capsule or outer portion of the cell wall of the organism. There is no evidence of an extra-cellular synthesis. It is difficult to reconcile the theory of the protoplasmic nature of the bacterial capsule and of the cell wall with the fact of the carbohydrate composition of the former.

5. The production of the gum is not the result of a symbiosis between two types of legume bacteria.

6. About three hundred solutions were tested to determine the conditions under which gum production takes place.

Of the salts of the organic acids, sodium succinate and ammonium citrate are the most favorable of those tested.

Glycerin, alone and with ammonium phosphate, is favorable.

Asparagin and sodium asparaginate, while allowing considerable growth, are not favorable for gum production.

The glucosides amygdalin and salicin are unusually favorable.

Peptones and nutrose do not constitute a favorable medium for the growth of the organisms, and permit no formation of gum.

Extracts containing the alcohol soluble and insoluble constituents of the vetch each proved a suitable medium in the proper dilutions.

Some fluid extracts constitute a suitable medium for the production of gums, in other cases a distinct antiseptic action is manifest.

All of the fifteen carbohydrates tested are favorable for gum production. The addition of ammonium phosphate inhibits the growth of some races and increases that of others.

The optimum concentration of saccharose is 2 %, although some races produce gum in small quantities in concentrations as high as 30 %.

Potassium nitrate in 2 % saccharose solutions slightly increases growth and gum production in all low dilutions.

Fluid extracts added in varying quantities to 2 % saccharose and to 1 % maltose in some cases increase the amount of gum produced, and in others, particularly in the higher concentrations, completely inhibit growth.

Peptone added to 2 % saccharose solutions considerably increases the amount of gum produced.

7. Organisms isolated from different legumes differ in their ability to produce gums under the same conditions. This points to a certain degree of racial differentiation.

I wish to sincerely thank Prof. E. O. Jordan of the University of Chicago for his many helpful criticisms during the progress of this work.

Citations.

Adametz, Landwirtschaftl. Jahrb. Bd. XX. 1891. p. 185.
Andrlik, Zeitschr. f. Zuckerindustrie in Böhmen. Bd. XX. 1895. p. 84.
Baudrimont, Compt. rend. T. LXXX. 1875. p. 1253.
Béchamp, Compt. rend. T. XCIII. 1881. p. 78.
Beijerinck, Bot. Zeitung. Bd. XLVIII. 1890. p. 838.
—, After Lindau, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. II. 1891. p. 75.
Boekhout, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VI. 1900. p. 161.
Borscow, Ref. Bot. Jahrb. Bd. IV. 1878. p. 790.
Bräutigam, Ref. Chem. Centralbl. Bd. II. 1891. p. 648.
Däumichen, Zeitschr. d. Vereins d. Deutschen Zuckerindustrie. Bd. XL. p. 701.
Delafond, Bull. d. l'ass. d. chim. T. XVI. 1898. p. 368.
Duclaux, Traité de microbiologie. T. IV. 1901. p. 390.
Durin, Ann. sci. nat. bot. Sér. 6. T. III. 1877. p. 266.
—, Compt. rend. T. LXXXIII. 1876. p. 128.
Emmerling, Ber. d. D. chem. Ges. Bd. XXXIII. 1900. p. 2477.
Glaser, Chem.-Zeitung. Bd. XIX. 1895. p. 1704.
Gruber, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 785.
Happ, Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1893. p. 175.
Harrison and Barlow, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. p. 517.
— —, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIX. p. 264.
Henzold, Milchzeitung. Bd. XXX. 1901. p. 262.
Héry, Ann. d. micrographie. Vol. IV. 1891. p. 13.
Hiltner, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VI. 1900. p. 273.
Hiltner and Störmer, Arb. d. biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtsch. Kais. Ges.-Amte. Bd. III. 1903. p. 151.
Hohl, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 338.
Hueppe, Deutsche med. Wochenschr. Bd. X. 1884. p. 777.
Kirchner, Cohns Beiträge. Bd. X. 1896. p. 213.
Koch and Hosaeus, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XVI. 1894. p. 225.
Kramer, after Lippman. 1889.
Laurent, Bull. de l'Académie Royale de Belgique. Sér. 3. T. X. 1885. p. 765.
—, Ann. d. l'Inst. Past. 1891.
Laxa, Zeitschr. f. Zuckerindustrie in Böhmen. Bd. XXIV. p. 423. After Lippman.
Leichmann, Landwirtschaftl. Versuchsstat. Bd. XLIII. 1894. p. 375.
Lepierre, Compt. rend. 1898. p. 284.
Liesenberg and Zopf, Zopfs Beiträge zur Physiologie und Morphologie niederer Organismen. Bd. I. 1892. p. 1.
Lippmann, Chemie der Zuckerarten. 3. Aufl. 1904.
Maassen, Arb. d. biol. Abt. d. Kaiserl. Ges.-Amts. Bd. V. 1905. p. 1.
Malerba, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XV. 1891. p. 539.
Malera and Sanna Salaris, Ref. Chem. Centralbl. Bd. II. 1888. p. 1392.
Marpmann, Apotheker-Zeitung. Bd. VII. 1892. p. 62.

Mazé, Ann. d. l'Inst. Pasteur. T. XI. 1897.
—, Ann. d. l'Inst. Pasteur. T. XII. 1898a. p. 1.
—, Ann. d. l'Inst. Pasteur. T. XII. 1898b. p. 128.
Migula, Handbuch der Bakterien. 1897.
Monoyer, after Sato. 1862.
Orth, Bull. d. l'ass. d. chim. T. XVII. 1899. p. 30.
Pitoy, Chem.-Zeitung Bd. XXVI. p. 502.
Prazmowski, Landw. Versuchsstat. Bd. XXXVII. 1890.
Ratz, Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilkunde. Bd. XVI. 1896. p. 100.
Rettger, Journ. Med. Research. Vol. X. 1903. p. 101.
Ritsert, Ref. Chem. Centralbl. Bd. LXIII. 1891. p. 236.
de Rossi, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVIII. 1907. p. 289.
Ruhland, Ber. d. deutsch. Botan. Gesellsch. Bd. XXIV. 1906. p. 393.
Sato, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIX. 1907. p. 27.
Schardinger, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 144.
Scheiber, Ref. Hugo Fischer in Lafar, Handb. der techn. Myk. Bd. I. 1874. p. 230.
Schmidt-Mülheim, Landw. Versuchsstat. Bd. XXVIII. 1901. p. 91.
Schöne, Zeitschr. d. Ver. d. deutsch. Zuckerindustrie. Bd. LI. 1901. p. 453.
Seiler, Zeitschr. f. Untersuch. der Nahrungs- und Genußmittel. Bd. IX. 1905. p. 513.
Smith, Centralbl. f Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. p. 380.
—, Proc. Linn. Soc. New South Wales. Vol. XXXIV. 1899. p. 653.
—, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. p. 60 und Bd. XI. p. 698.
—, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XV. 1905. p. 793.
Stutzer, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VII. 1901. p. 897.
Petersson, Ref. Chem. Centralbl. 1900. p. 307.
Vandam, Bull. de l'ass. Belge de chim. T. IX. 1896. p. 245.
Van Laer, Mémoire couronnés et autres mémoires publiés par l'académie royale de Belgique. T. XLIII. 1889.
—, Ann d. l'Inst. Pasteur. T. XIV. 1900. p. 82.
Van Tieghem, Ann. d sci. nat. Bot. sér. 6. T. VII. 1878. p. 180.
Ward, Phil. Trans. Vol. CLXXXIII. 1892. p. 125.
Ward and Green, Proc. Roy. Soc. Vol. LXV. 1899. p. 65.
Wegner, Zeitschr. d. Ver. f. Rübenzuckerindustrie. Bd. XL. 1890. p. 789.
Weigmann, Milchzeitung. Bd. XVIII. 1889. p. 982.
Zettnow, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. LVII. 1907. p. 154.

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. Otto Hamann,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin

Systematik, Morphologie.

Arthur, J. C., Die neue Klassifikation der Uredineen und ihre Kritiker. (Ann. mycol. Vol. VI. 1908. N. 4. p. 326—330.)

Diedicke, H. und **Sydow, H.,** Ueber Paepalopsis deformans. (Ann. mycol. Vol. VI. 1908. N. 4 p. 301—305. 12 Fig.)

Griffon et **Maublanc,** Sur le blanc du Chêne. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLVII. 1908. N. 8. p. 437—439.)

Hennings, P., Fungi S. Paulenses 4. a cl. Puttemanns collecti. (Hedwigia. Bd. XLVIII. 1908. Heft 1/2. p. 1—20.)

—, Fungi paraenses 4. (Hedwigia. Bd. XLVIII. 1908. Heft 1/2. p. 101—117.)

—, Fungi von Madagaskar, den Comoren und Ostafrika. (Voeltzkow, Reisen in Ostafrika. Wissensch. Ergebnisse. Bd. III. Systemat. Arb. 2. 1908. Heft 1.)

Mariani, Giuditta, Secondo contributo allo studio della Cecidologia valdostana. (Atti d.

R. Soc. Ital. d. Sc. med. e del Museo civico di St. nat. in Milano. Vol. XLVI. 1908. Fasc. 4. p. 389—323. M. Fig.)

Newstead, R., On a collection of Coccidae and other insects affecting cultivated and wild plants in Java and tropical Western Africa. (Journ. of economic biol. Vol. III. 1908. N. 1/2. 10 p. 2 Taf.) 2,50 M.

Rehm, H., Ascomycetes novi. (Ann. mycol. Vol. VI. 1908. N. 4. p. 313—325.)

Zschacke, Hermann, Beiträge zu einer Flechtenflora des Harzes. (Hedwigia. Bd. XLVIII. 1908. Heft 1/2. p. 21—44.)

Biologie.

Almquist, Ernst, Studien über das Verhalten einiger pathogenen Mikroorganismen bei niedriger Temperatur. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLVIII. 1908. Heft 2. p. 175—186. 22 Fig.)

Bierberg, W., Bakterienblasen (Bakteriocysten). (Mitt. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. Jg. XX. 1908. N. 10. p. 154—156.)

Brues, C. T., Notes and descriptions of North American parasitic Hymenoptera 6. (Bull. of the Wisconsin Nat. Hist. Soc. Vol. VI. N. S. N. 1/2.)

Bugge, Pseudokolonieen mit Bewegung im Innern auf Agarplatten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XLII. Beiheft [2. Vereinig. f. Mikrobiol.] 1908. p. 69—72.)

Cercelet, H., Fixation de l'azote gazeux par les microorganismes: inoculation bactérienne des sols. (Rev. de viticult. Année XV. 1908. N. 776. p. 480—483.)

Degenkolb, Werner, Die alkoholische Gärung. Entstehungsgeschichte von Wein und Bier. Hamburg (Deutschl. Großloge II des I. O. G. T.) 1908. 34 p. 8⁰.

Dietel, P., Ueber die morphologische Bewertung der gleichnamigen Sporenformen in verschiedenen Gattungen der Uredineen. (Hedwigia. Bd. XLVIII. 1908. Heft 1/2. p. 118—125.)

Eisenberg, Philipp, Ueber die Thermoresistenz der vegetativen Formen der aeroben Sporenbildner. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLVIII. 1908. Heft 2. p. 187—191.)

Hayduck, F., Ueber Pilzgifte im Getreide, Würzen und Hefen und die Abhängigkeit ihrer Wirkung von Mineralsalzen. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrikat. Jg. XXXVI. 1908. N. 41. p. 505—507; N. 42. p. 513—516.)

Helms, R., Soil Bacteria. (Agricult. Gaz. of New-South-Wales. Vol. XIX. 1908. P. 8. p. 657—662.)

Höflich, C., Welche Aufgaben haben die im Boden vorkommenden Bakterien? (Landw. Wchnbl. f. Schleswig-Holstein. Jg. LVIII. 1908. N. 40. p. 679—681.)

Hüne, Die begünstigende Reizwirkung kleinster Mengen von Bakteriengiften auf die Bakterienvermehrung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLVIII. 1908. Heft 2. p. 135—140.)

Kossowicz, Alexander, Ueber eine durch Bacterium coli commune verursachte faulige Gärung grüner Oliven und deren Behebung. (Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. XI. 1908. Heft 9. p. 723—727.)

Kusano, S., Biology of the Chrysanthemum-rust. (Ann. mycol. Vol. VI. 1908. N. 4. p. 306—312.)

Mordwilko, A., Beiträge zur Biologie der Pflanzenläuse, Aphididae Passerini. [Schluß.] (Biol. Centralbl. Bd. XXVIII. 1908. N. 20. p. 649—662.)

Nüsslin, Zur Biologie der Chermes pineae Retz. (Verh. d. Dtschn. Zool. Ges. 18. Vers Stuttgart 1908. p. 205—224. 4 Fig.)

Sartory, A. et **Jourde, A.**, Pouvoir pathogène des Mucédinées, comparé à leur résistance aux alcalis et aux acides. (Compt. rend. soc. biol. T. LXV. 1908. N. 28. p. 304—305.)

Slator, A., Untersuchungen bei der Hefegärung. (Journ, of the Soc. chem. ind. Vol. XXVII. 1908. p. 653—664.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft, Wasser, Boden.

Georgs, Eine Betrachtung über das Bakterienleben im Ackerboden. (Hannoversche Land- u. Forstw.-Ztg. Jg. LXI. 1908. N. 35. p. 837—840.)

Sartory, A., Dispositif pour la stérilisation de l'air au moyen de l'électricité. (Compt. rend. soc. biol. T. LXV. 1908. N. 28. p. 302—303. 3 Fig.)

Nahrungsmittel im allgemeinen.

Koch, A., Die Haltbarmachung von Gemüse durch Erhitzen. [Forts.] (Konserven-Ztg. Jg. IX. 1908. N. 43. p. 687.)

Pfuhl, Ueber die Verunreinigung des Inhalts von Konservenbüchsen nach der Sterilisation. (Konserven-Ztg. Jg. IX. 1908. N. 43. p. 685—686. [Ztschr. f. Hyg. u. Infektkr.].)

Milch, Molkerei.

Burr, Ueber fleckige (streifige) Butter. (Landw. Wchnbl. f. Schleswig-Holstein. Jg. LVIII. 1908. N. 41. p. 698—699.)

Colwell, Rachel H. and **Sherman, H. C.**, Chemical evidence of peptonization in raw and pasteurized milk. (Journ. of biol. chemistry. Vol. V. 1908. N. 2/3. p, 247—251.)

Eber, A., Ueber den Tuberkelbacillengehalt der in Leipzig zum Verkauf kommenden Milch und Molkereiprodukte. (Fühlings landw. Ztg. Jg. LVII. 1908. Heft 21. p. 705—717.)

Hanauer, W., Zur Geschichte der Milchhygiene bis zur Mitte des vorigen Jahrhunderts. (Hygien. Rundsch. Jg. XVIII. 1908. N. 20. p. 1201—1214.)

Kossowicz, Alexander, Untersuchungen über den Bakteriengehalt der Trockenmilch. [1. Mitt.] (Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. XI. 1908. Heft 9. p. 719—724.)

Kühlapparate für Milch und Rahm. (Eis- u. Kälte-Industrie. Bd. X. 1908. N. 10. p. 179—183. 4 Fig.)

Kuntze, W., Studien über fermentierte Milch. 1. Yoghurt und Mazun. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XXI. 1908. N. 24/25. p. 737—768. 3 Taf.)

Ostermann, A., Drohen beim Genuß von Milch und Milcherzeugnissen von perlsüchtigen Kühen Gefahren? (Molkerei-Ztg. Berlin Jg. XVIII. 1908. N. 42. p. 493—494.)

Pape, Robert, The pasteurisation of small quantities of milk and cream in bottles. (Transvaal agricult. Journ. Vol. VI. 1908. N. 24. p. 597—598. 1 Fig.)

Bier, Brauerei.

Schlönning, A., Ueber die Torula in der englischen Bierbrauerei. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXV. 1908. N. 44. p. 693—695.)

Will, H. und **Dachs, J.**, Beiträge zur Kenntnis der Sproßpilze ohne Sporenbildung, welche in Brauereibetrieben und deren Umgebung vorkommen. [4. Mitt.] (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXXI. 1908. N. 44. p. 528—531.)

Wein, Weinbereitung.

Meissner, Die Behandlung des Weines vom Fassen bis zum zweiten Abstich. [Schluß.] (Der Weinbau. Jg. VII. 1908. N. 10. p. 154—157.)

—, Untersuchungen über den Einfluß des Chlorammoniums und phosphorsauren Ammoniums auf den Verlauf der Gärung bei Traubensäften und Weinen. (5. Ber. d. kgl. Württemberg. Weinbau-Vers.-Anst. Weinsberg i. J. 1907. p. 90 91.)

Pini, Ranieri, Le froid artificiel en oenologie. (Rev. de viticult. Année XV. 1908. N. 775. p. 449-456.)

Rosenstiehl, A., Du rôle des levures et des cépages dans la formation du bouquet des vins. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLVI. 1908. N. 23. p. 1224—1226.)

—, Du rôle de la fermentation de l'acide malique dans la vinification. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLVII. 1908. N. 2. p. 150—153.)

Trillat, A., L'aldéhyde acétique dans le vin; son origine et ses effets. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XXII. 1908. N. 9. p. 704—719. 2 Taf.)

Trillat et **Santon**, Etude sur le rôle des levures dans l'aldéhydification de l'alcool. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLVII. 1908. N. 1. p. 77—80.)

Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion usw.

Delépine, L., The standardizing of disinfectants. (Journ. of the R. Instit. of public health. Vol. XVI. 1908. N. 10. p. 577—595.)

Kurgass, Paul, Anwendung des Emscherbrunnens für die Vorreinigung und Nachreinigung bei biologischen Kläranlagen. (Gesundheits-Ingenieur. Jg. XXXI. 1908. N. 44. p. 697—699. 3 Fig.)

Stirnimann, E., Die neuen Müllverbrennungs-Anlagen der Horsfall Destructor Co. Ltd. (Elektrotechn. Ztschr. Jg. XXIX. 1908. Heft 45. p. 1076—1078. 6 Fig.)

Uhlenhuth, Antiformin, ein bakterienauflösendes Desinfektionsmittel. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XLII. 1908. Beiheft [2. Vereinig. f. Mikrobiol. p. 62—69.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Attridge, H. L., South African bee-keeping. (Agricult. Journ. of the Cape of good hope. Vol. XXXIII. 1908. N. 3. p. 307—317. M. Fig.)

Blunno, M., Some results of the experiments with european grape vines grafted on

Phylloxera-resistant stocks. (Agricult. Gaz. of New South Wales. Vol. XIX. 1908. P. 7. p. 553—564.)

Bünger, Die Blattkrankheit der Kartoffel. (Hannoversche Land- u. Forstw.-Ztg. Jg. LXI. 1908. N. 32. p. 708—710.)

Bureau, E., Effets de l'Oidium quercinum sur différentes espèces de Chênes. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLVII. 1908. N. 13. p. 371—374.)

Carpenter, G. H., Injurious insects etc. observed in Ireland 1907. (Economic Proc. of the R. Dublin Soc. Vol. I. 1908. Part 15. p. 559—588. 6 Taf. u. 10 Fig.) 2 M.

Collinge, W. J., Manual of injurious insects. With the co-operation and assistance of the leading economic entomologists (6—7 parts). Uppington 1908. Part 1. 8°. Mit Fig.

Despeissis, A., Root rot. (Journ. of agricult. Western Australia. Vol. XVII. 1908. P. 1. p. 534—540. 2 Taf.)

Evans, J. B. Pole, Potato scab (Oospora scabês Thaxter). (Transvaal agricult. Journ. Vol. VI. 1908. N. 24. p. 576. 4 Taf.)

—, Anthracnose or zwart roest of the grape (Gloeosporium ampelophagum Sacc.). (Transvaal agricult. Journ. Vol. VI. 1908. N. 24. p. 577—578. 3 Taf.)

Fenner, Der Fraß der Kiefernbuschhornblattwespe (Loph. pini) in den Waldungen des unteren Main- und Kinzigtales der ehemaligen Grafschaft Hanau. (Festschr. 100-jähr. Best. d. Wetterauischen Ges. f. d. ges. Naturk. Hanau. 1908. p. 118—139.)

Feytaud, J., Les chrysomèles de l'osier. (Rev. de viticult. Année XV. 1908. N. 773.

Graebner, P., Einige wenig beachtete nichtparasitäre Pflanzenkrankheiten. (Der Landwirtschaftbeamte. Jg. XVI. 1908. N. 9. p. 67—71. 4 Fig.)

Hewitt, C. Gordon, The biology of house-flies in relation to the public health. (Journ. of the R. Instit. of public health. Vol. XVI. 1908. N. 10. p. 596—608. 3 Fig.)

—, Enchytraeid worm injurious the seedlings of the larch. (Journ. of economic biol. Vol. III. 1908. N. 1/2. 1 Taf.)

Hiltner, Warnung vor einer gefährlichen Gurkenkrankheit. (Prakt. Bl. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. VI. 1908. Heft 7. p. 74—75.)

—, Ueber das Auftreten von Milben am Getreide, namentlich am Hafer. (Prakt. Bl. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. VI. 1908. Heft 7. p. 75—76.)

—, Das Auftreten des amerikanischen Stachelbeermehltaues in Bayern. (Prakt. Bl. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. VI. 1908. Heft 8. p. 85—86; Heft 10. p. 112—113.)

—, Ueber den derzeitigen Stand der Ring- und Blattrollkrankheit der Kartoffeln in Bayern. (Prakt. Bl. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. VI. 1908. Heft 8. p. 86—87.)

—, Ueber das massenhafte Auftreten der Kohlweißlinge. (Prakt. Bl. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. VI. 1908. Heft 8. p. 87—89.)

—, Starkes Auftreten von Engerlingen. (Prakt. Bl. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. VI. 1908. Heft 8. p. 89.)

—, Ueber das Auftreten von Schnecken auf den Wintersaaten. (Prakt. Bl. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. VI. 1908. Heft 10. p. 109.)

—, Ueber das Auftreten des Rostes am Wintergetreide. (Prakt. Bl. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. VI. 1908. Heft 10. p. 109—110.)

Howard, C. W., The codling moth (Carpocapsa pomonella L.). (Transvaal agricult. Journ. Vol. VI. 1908. N. 24. p. 523—526. 1 Taf.)

Howard, C. v,, Notes on Transvaal tobacco pests. (Transvaal agricult. Journ. Vol. VI, 1908. N. 24. p. 609—616. 2 Taf. u. 4 Fig.)

Insect pests and their foes. Extracts from progress report by W. W. Froggatt. (Journ. of agricult. of South Australia. Vol. XII. 1908. N. 1. p. 33—40; N. 2. p. 137—141.)

Kelly, Albert, Locust destruction. Report on 1907s Campaign. (Natal agricult. Journ. Vol. XI. 1908. N. 7. p. 865—874.)

Korff, G., Ueber ein starkes Auftreten des Meerrettichblattkäfers. (Prakt. Bl. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. VI. 1908. Heft 8. p. 92—95. 3 Fig.)

—, Die Wühl- oder Mollmaus (Arvicola amphibius) und ihre Bekämpfung. Flugbl. 6 d. k. Bayr. Agrik.-Anst. München. (Prakt. Bl. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. VI. 1908. Heft 9. p. 100—107. 3 Fig.)

Lounsbury, Chas. P., The Fusicladium disease of the pear and apple. (Agricult. Journ. of the Cape of good hope. Vol. XXXIII. 1908. N. 1. p. 16—32. 10 Fig.)

Lüstner, Gustav, Ueber ein starkes Auftreten der Runkelfliege. (Amtsbl. d. Landw.-Kammer f. Wiesbaden. Jg. XC. 1908. N. 39. p. 252. 1 Fig.)

Mackenzie, M. and **Maxwell-Lefroy, H.**, The sugarcane borers of Behar. (Agricult. Journ. of India. Vol. III. 1908. Part. 2. p. 104—124. 3 Taf.)

Maxwell-Lefroy, H., Insect pests of Mangel Wurzel. (Agricult. Journ. of India. Vol. III. 1908. Part 2. p. 161—163.)

—, Imported insect pests. (Agricult. Journ. of India. Vol. III. 1908. Part 3. p. 237—244.)

—, The Tobacco caterpillar (Prodenia littoralis). Pusa (Agric. Research Inst.) 1908. (p. 80

—93). 8°. (= Memoirs of the Department of Agriculture in India. Entomol. Ser. Vol. II. N. 5.)

Meissner, Richard, Ueber eine Ursache des Absterbens von Rebtrieben im Jahre 1907. (5. Ber. d. kgl. Württemb. Weinbau-Versuchsanst. Weinsberg i. J. 1907. p. 84—86. 1 Fig.)

—, Bestimmungen von Krankheiten des Weinstockes und Beratung der Interessenten über die Bekämpfung dieser Krankheiten. (5. Ber. d. kgl. Württemb. Weinbau-Versuchsanst. Weinsberg i. J. 1907. p. 9—14.)

Mundy, H. Godfrey, Notes on rust-resisting wheats. (Transvaal agricult. Journ. Vol. VI. 1908. N. 24. p. 578—580.)

Muttkowski, R. A., Review of the Dragon-flies of Wisconsin. (Bull. of the Wisconsin Nat. Hist. Soc. Vol. VI. (N. S.) N. 1/2.)

Newmzn, L. J., The fruit fly parasite. (Journ. of agricult. Western Australia. Vol. XVII. 1908. P. 1. p. 561—563. 2 Taf.)

Notes on insect, fungus and other pests. (Journ. of the board of agricult. Vol. XV. 1908. N. 5. p. 355—357; N. 6. 432—442.)

Patel, Chhotabhai, Katra (Hairy caterpillars) in Gujarat. (Agricult. Journ. of India. Vol. III. 1908. Part 2. p. 152—160.)

Pethybridge, G. H. and **Bowers, E. H.**, Dry rot of the potato tuber. (Economic Proc. R. Dublin Soc. Vol. I. 1908. Part 14. 1 Taf.)

Probst, R., Infektionsversuche mit Kompositen-bewohnenden Puccinien. (Ann. mycol. Vol. VI. 1908. N. 4. p. 289—300.)

Quinn, Geo., The story of plant disease. (Journ. of agricult. of South Australia. Vol. XII. 1908. N. 1. p. 30—32.)

Schmitthenner, F., Die Reblausverseuchung und Rekonstruktion der Weinberge in der Schweiz. (Landw. Jahrb. Bd. XXXVII. 1908. Ergänzungsbd. IV. [Arb. d. k. Lehranst. Geisenheim.] p. 41—70.)

Spieckermann, A., Ueber das Vorkommen von Chrysophlyctis endobiotica Schilb. in Westfalen. (Prakt. Bl. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. VI. 1908. Heft 16. p. 113—116. 2 Fig.)

Stift, A., Ueber das Auftreten von Ramularia betae auf Samenfutterrüben. (Blätt. f. Zuckerrübenbau. Jg. XV. 1908. N. 18. p. 277—279.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Abgeschlossen am 4. Januar 1909.

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XXII. No. 14/17.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck nur mit Genehmigung des Verfassers gestattet.

Die Bakterienflora

von Runkelrüben, Steckrüben, Karotten, von Milch während der Stallfütterung und des Weideganges einschließlich der in Streu, Gras und Kot vorkommenden Mikroorganismen und deren Mengenverhältnisse in den 4 letzten Medien.

Kurze Beschreibung der nichtidentifizierbaren Bakterien.

Von Dr. **Th. Gruber,** Braunschweig.

Die Hygiene der Milch resp. die Behandlung dieses wertvollen Nahrungsmittels ist schon lange der Gegenstand unzähliger Arbeiten und Betrachtungen gewesen; allein der Punkt, auf den sich die Haltbarkeit der Milch beinahe ausschließlich konzentriert: auf eine richtige einwandsfreie Stallhaltung bezüglich Reinlichkeit in jeder Beziehung, verbunden mit Aufmerksamkeit und etwas Denken, hat in der Praxis immer noch nicht die richtige Würdigung gefunden. Die Tatsache, je reinlicher die Milch von ihrem Ursprunge an bis in die Hand der Konsumenten behandelt wird, desto mehr Gewähr für ihre Haltbarkeit geboten ist, hat in der Praxis wohl festen Fuß gefaßt; aber solange die Milch eben nicht den Preis erreicht, der ihr doch infolge ihres hohen Nährwertes unbedingt zukommt, können wohl nicht die praktischen Anforderungen der Hygiene in ganzem Maße erfüllt werden. Die Haltbarkeit einer Milch ist direkt abhängig von der Menge und Art der Mikroorganismen, die während des Melkens und der weiteren Behandlung in dieselbe gelangen: Im Kuheuter ist die Milch meist steril oder nur sehr schwach mit Bakterien infiziert, mithin müssen die bakteriologischen Verunreinigungen der Milch äußerer Invasion entspringen. Die Feststellung der Bakterienflora jener Medien, die mit der Milchwirtschaft in Berührung stehen, zu erforschen soll die Aufgabe der folgenden Zeilen sein.

Die Stallluft selbst ist im großen und ganzen mit jenen Mikroorganismen durchsetzt, die aus den Futterstoffen, Streu, Kot etc. ihren Ursprung nehmen und die sich, wenn die gemolkene Milch lange im Stalle verbleibt, auf die Milch niederlassen und in ihr einen sehr geeigneten Nährboden zur Weiterentwickelung finden. Einem weiteren Ueberträger zwischen Luft und Milch begegnet man in jedem Stalle in den manchmal in Unmengen sich vorfindenden Fliegen. Diesem Umstand bin ich durch bakteriologische Untersuchungen, d. h. durch Festlegung der Keimzahl pro Fliege, der derselben äußerlich anhaftenden Bakterien und der am meisten vorkommenden Arten auf dem Fliegenleibe in Nebenversuchen näher getreten; natürlich erfolgte in diesem gegebenen Falle nur eine Zählung und Differenzierung aërober Keime. Mit sterilem Wasser wurden in einem Meßkolben die lebend eingefangenen Tierchen unter öfterem und tüchtigem Umschütteln einige Minuten lang behandelt,

dann bis zur Marke mit sterilem Wasser aufgefüllt und mit einem aliquoten Teile Gelatine und Agarplatten gegossen, erstere wurde in gewöhnlicher Zimmertemperatur bei 16—18° aufbewahrt, letztere bei 37,5° im Brutschranke. Am 4. Tage erfolgte die Zählung, die Keimzahlen bewegten sich zwischen 80000 und 1900000 pro Fliege, die Gelatineplatten ergaben in diesem Falle immer bedeutend niedere Resultate als die Agarplatten. Ein allzu reiches Bild boten die Kolonieen auf den Platten allerdings nicht, die Gelatineplatten waren völlig peptonisiert, die Agarplatten ließen nur zweierlei Kolonieen erkennen, die den sporulierenden Arten Bacillus subtilis und Bacillus mycoides angehörten. Letztgenannte Organismen finden sich mehr oder minder in der Stalluft suspendiert, je nachdem die Untersuchung der Stallluft kürzere oder längere Zeit nach dem Streuen eingeleitet wurde. Eine andere Quelle für die Bakterien, die für die Milch in Betracht kommen, findet man im Kuhkote. Bacterium aërogenes, Pseudomonas coli, Bacillus subtilis und mycoides kommen als Bewohner des Kuhkotes hauptsächlich in Betracht. In feuchtem Zustande ist dieser Kot weniger gefährlich zur Verbreitung der Keime als in trockenem, er zerfällt leicht in feines Pulver und diese kleinen Partikelchen teilen sich leicht der Stallluft mit. In trockenem Zustande, infolge des Verdunstens des Wassers und der Sporulation gewisser Bakteriengruppen nimmt die Keimzahl ungeheuere Größen an, sie erhöht sich, wie spätere Resultate dartun werden, von 800000 Keimen pro 1 g feuchten auf 120 Mill. ausgetrockneten Kotes. Die Zahlen beziehen sich auf die Zählung der Agarplatten bei 37,5°, während Gelatinekulturen bei Zimmertemperatur 200000—7650000 Keime ergaben.

Betreffs der Feststellung der Mikroorganismenflora verschiedener Futtermittel kamen in Betracht: Steckrüben, Runkelrüben und Karotten zweier verschiedener Provenienz, die Krautteile wie Rüben wurden getrennt untersucht.

Die Blätter wurden entweder ganz oder in zerkleinertem Zustande mit sterilem Wasser in Kolben während einer Stunde und öfters in diesem Zeitraume gründlich durchgeschüttelt und ausgelaugt. Aus diesen Aufschwemmungen wurden mittels Gelatine- und Agarplatten die jeweiligen Bakterien isoliert. In kurzen Zügen seien die Resultate hier mitgeteilt.

1) Ganze Blätter der Steckrüben. Die Differenzierung der verhältnismäßig wenigen Arten ergab 40 Proz. fluoreszierende verflüssigende Bakterien, 20 Proz. Bacillus mycoides, das übrige verteilt sich auf Mikroorganismen, die auf Milch keinen physiologischen Einfluß ausüben.

2) Ganze Blätter der Runkelrüben. Karg war auch hier die Artenzahl, 70 Proz. fluoreszierend verflüssigenden und 30 Proz. indifferente Stämme fanden sich vor.

3) Ganze Blätter von Karotten a. Die peptonisierenden fluoreszierenden steigen hier bis 90 Proz., während die übrigen 10 Proz. den indifferenten Mikroorganismen zukommen.

4) Ganze Blätter von Karotten b. Fluoreszierende Bakterien behaupten auch hier das Feld, außer den indifferenten Arten traten hier noch Bacillus mycoides, Bacillus subtilis und ein Saccharomyces auf.

Die Analyse der zerdrückten Blätter zeitigte im großen und ganzen

dieselben Resultate, nur bei den Karotten b kam Bacterium aërogenes, Pseudomonas coli und Clostridium licheniforme und die fluoreszierenden Arten in gleichen Mengen vor.

Mit den jeweilig hergestellten Verdünnungen der ganzen und zerkleinerten Blätter wurden kleine sterile Milchflaschen geimpft, einige Tage bei 18—20° und dann bei 37,5° aufbewahrt. Sämtliche Proben waren unter mehr oder minder starken Gärungserscheinungen koaguliert. Diese gewonnenen Proben wurden wiederum analysiert.

1) Probe mit den ganzen Steckrübenblättern.

Gelatine- wie Agarplatten erweckten den Eindruck, als ob nur eine Bakterienart zur Entwickelung gelangt sei. Die Kolonieen blieben klein und kamen nicht an die Oberfläche des Nährmediums.

Diese Tiefkolonieen gehörten nur 3 verschiedenen Gruppen an. 1) den echten Milchsäurebakterien, 2) der Gruppe Bacterium aërogenes und 3) der Gruppe Pseudomonas coli. Die Milchsäurebakterien koagulierten in kurzer Zeit die Milch bei Zimmertemperatur, waren aber alle mehr oder minder stark mit dem bekannten, lästigen Malzgeruch und -geschmack behaftet.

2) Probe mit den Blättern der Runkelrüben.

Das bakteriologische Bild war dem vorhergehenden in jeder Beziehung völlig identisch.

3) Probe mit Karottenblättern a.

Zu den genannten 3 Bakterienarten gesellte sich noch Clostridium licheniforme in wenigen Exemplaren hinzu.

4) Probe mit Karottenblättern b.

Bacterium aërogenes und Pseudomonas coli waren die beiden Hauptgruppen, sehr wenig konnte Clostridium licheniforme auch hier aufgefunden werden.

Die Milchproben der zerkleinerten Blätter zeigten noch mehr das Vorhandensein von echten Milchsäurebakterien, und zwar waren die mit dem spezifischen Malzgeruch sehr zurückgedrängt, während hingegen viele Stämme dieser Species zur Geltung gelangten, die ein sehr reines, kräftiges und aromatisches Aroma, ein Obstaroma der gesäuerten Milch verliehen, es waren also physiologisch andere Stämme, die sich aber durch ihre Eigenschaft einer guten, schnellen und aromatischen Säuerung sehr zu Reinkulturen der Butterbereitung qualifizierten. Die fluoreszierenden Bakteriengattungen sind durch die Bebrütung in Milch völlig verloren gegangen, die Säurebildner gewannen gleich von Anfang die Oberhand, die durch sie produzierte Milchsäure setzte eben den Fäulniserregern ein energisches Entwickelungshemmnis entgegen.

Sämtliche Mikroorganismen der verschiedenen Aufschwemmwassers waren Hitze gegenüber nicht sehr widerstandsfähig, denn eine Erhitzung bei 98° während einer Minute ließ auf den angelegten Platten nur noch die sporulierenden Arten zur Entwickelung gelangen.

Für eine weitere Untersuchung wurden die Rüben selbst äußerlich sorgfältig gereinigt, mit sterilem Wasser abgewaschen, mit übergehängtem sterilem Tuche, in sterilen Mörsern zerkleinert und mit Wasser weiter verdünnt, welche Verdünnungen als Ausgangsmaterial zur Erforschung der Flora dienten. Auch hier wurde nur den Aërobiern Aufmerksamkeit gewidmet.

Im großen und ganzen lehnte sich der bakteriologische Befund der Rüben stark an den der Stengelteile an, nur kam Bacterium aërogenes durchschnittlich mehr zur Geltung. Von anderen Mikroorganismen seien noch erwähnt: Bacillus prodigiosus, verschiedene Stämme der schleimigen Milch, Streptothrix odorifera, Bacillus mycoides, Bacillus subtilis, Bacillus mesentericus flavus und ruber, Sarcina lutea, Sarcina alba, einige aërobe Vertreter der Buttersäuregärung und fluoreszierende Arten.

Einen gleichen bakteriologischen Erfolg erzielten die Milchkulturen der Rübenverdünnung wie jene der Blätter.

Zwei Bakterien von den vielen aus den Rüben und Blättern derselben isolierten Arten, ein grünfluoreszierendes, verflüssigendes a und ein Stamm von Bacterium aërogenes b wurden ausgewählt, um deren Einfluß auf das Butteraroma etwas eingehender zu studieren.

Die Agarkultur von a besaß einen sehr scharfen und doch etwas aromatischen Geruch; eine mit diesen Bakterien geimpfte Milch war buttersauer, aromatisch und hinterließ auf der Zunge einen scharf bitteren Nachgeschmack. Beide Bakterien a und b gaben der Milch einen milchigen, buttersaueren und aromatischen Geruch. Eine solch vorbereitete Milchsäurekultur, versetzt mit einer kleinen Menge einer kräftig säuernden Milchsäurebakterie, wurde zu pasteurisiertem Rahm gegeben und derselbe der Säuerung bei 18—20° C überlassen. Nach Gerinnung wurde lege artis gebuttert, die gewonnene Butter wie allgemein üblich aufbewahrt. Die erhaltene Buttermilch wurde der Kostprobe unterworfen, sie schmeckte scharf sauer.

Die Prüfung der Butter nach 8 Tagen hatte folgendes Resultat: Geruch und Geschmack ranzig und talgig.

Eine weitere Geschmacksänderung trat auch späterhin nicht ein. Bei der bakteriologischen Analyse der ranzigen und talgigen Butter von der ersten Kostprobe war Bacterium a völlig verschwunden, und der Aërogenes-Stamm und die Milchsäure waren noch zu ermitteln.

Die Butterungsversuche verfolgten den Zweck, festzustellen, welche Bakterienstämme eventuell imstande sind, der Butter den bekannten Rübengeruch zu verleihen. Da eine solch fehlerhafte Butter aus dem angeführten Versuche nicht resultierte, wurde bei einem weiteren die Versuchsanordnung modifiziert. Zwei Portionen pasteurisierten Rahmes wurden getrennt mit Bakterien a und b geimpft, dann regelrecht im Meiereibetriebe zu Butter weiterverarbeitet. Die geimpften Proben säuerten im Rahmreifungsraum unter Zusatz von äußerst geringen Mengen von Reinkulturen bei 14—16° C. Eine Woche nach Fertigstellung der Butter besaß Probe mit Bacterium a, also dem fluoreszierenden Rübengeschmack und Geruch, dem in späteren Tagen ein talgiger, ranziger und ein bitterer Geschmack folgte. Bei der Probe mit der Aërogenes-Art war der Geruch scharf, der Geschmack ranzig und talgig. Auf diese Weise wurden die Versuche mehrmals wiederholt, auch mit anderen Arten der fluoreszierenden und der Aërogenes-Gruppe. Mehr oder minder starker Rübengeruch trat bei den Butterproben auf, deren Rahm mit fluoreszierenden Bakterien behandelt war. Tatsächlich scheinen nur diese Bakterienarten teilweise den Rübengeruch in Butter hervorzurufen, wenn sie in großer Menge in der Milch sich angesammelt haben, resp. der Rahm nicht in allen seinen Teilen genügend pasteurisiert und die Säuerung des Rahmes keine richtige war. In Betrieben,

in denen solche Butterfehler auftreten, ist immer mit frischen Milchsäurereinkulturen völlig Abhilfe geschaffen worden.

Früher einmal hatte ich schon Gelegenheit, über den Rübengeruch der Milch zu berichten, auch der seinerzeit isolierte Mikroorganismus entstammt ebenfalls der fluoreszierenden Gruppe und wurde von mir als Pseudomonas carottae 1902 in die bakteriologische Literatur eingeführt[1]).

Der zweite Teil meiner Abhandlung erstreckt sich auf die Bakterienflora der Milch während der Stallfütterung und des Weideganges einerseits, auf die Mikroorganismen in Kot, Streu und Gras andererseits.

Die Milch bei den nächsten Versuchen wurde möglichst einwandsfrei gewonnen. Unmittelbar vor dem Melken mußte der betreffende Melker sich gründlich die Hände mit lauwarmem Wasser und Seife reinigen, das Euter wurde mit einem sauberen, weichen Tuche abgewischt, kurz vor und während des Melkens im Stall die Fütterung unterlassen. Die Milch selbst wurde mittels sterilisiertem Trichter in ebenfalls sterilen Kolben aufgefangen, zu gleicher Zeit wurden Proben von Streu, resp. Gras und möglichst frischgefallener Kot entnommen. Sofort nach Ankunft im Laboratorium ungefähr 10 Minuten nach dem Melken begann die Ausführung der bakteriologischen Arbeit. Bei den Stallversuchen wurden 25—60 ccm Milch auf 1000 ccm, von Kot 4,0 g auf 500 und von dieser Verdünnung 10—25 ccm auf 1000 ccm, von Streu 20 g auf 500, dann wieder 20 ccm auf 1000 ccm Wasser angewandt. Beim Weidegang wurde das Gras an möglichst vielen Stellen mittels sterilisierter Schere entnommen, die einzelnen Proben zerkleinert, alle Proben vereinigt und dann mit Wasser ausgelaugt, so daß man zuletzt eine Verdünnung von 1:1000 erlangt. Zur Festlegung der Keimzahl kamen die jeweiligen Verdünnungen mittels der Pipette direkt in die Petri-Schalen und durch geeignete Bewegung der Schalen war eine gleichmäßige Verteilung der Keime sehr gut zu erzielen. Außer den Nährmedien, Gelatine und Agar, sollte auch mit Lakmus-Molken-Gelatine eine Isolierung resp. Identifizierung vorgenommen werden und zwar durch Kultivierung von Oberflächenkolonieen. Auf dem in der Kulturschale plan erstarrten Nährboden wurde die jeweilige Menge der betreffenden Verdünnung abpipettiert, sofort mit dem Platindraht über die ganze Oberfläche verteilt. Die Oberflächenkolonieen entwickelten sich sehr rasch, nur trat immer der Uebelstand ein, daß die peptonisierenden Bakterien sich zu sehr geltend machten, indem solche Kulturen in sehr kurzer Zeit völlig verflüssigt waren, welcher Umstand ihre weitere Verwendung bei späteren Versuchen ausschließen mußte. Von den 12 Versuchen waren insgesamt 350 Kulturen abgeimpft, nach eingehendem Vergleich restierten 51 Arten von Mikroorganismen, davon waren 28 Stämme identifizierbar, 14 konnten nicht bestimmt werden, 9 wurden nicht in Betracht gezogen, da sie keinen physiologischen Einfluß auf Milch ausübten. Als identisch wurden solche Stämme betrachtet, die in den folgenden Merkmalen übereinstimmten, welche mir immer bei einer bakteriologischen Analyse maßgebend waren und die immer sicher und schnell ihren Zweck erfüllten bei meinen sonstigen zahlreichen Arbeiten auf dem Gebiete der Diagnostik der saprophytischen Bakterienflora.

Vor allem lag der Hauptorientierungspunkt über die vielen Stämme in ihrer physiologischen Tätigkeit gegenüber Milch. Nach dieser physiologischen

1) Molkerei-Zeitung. 1902. No. 20. p. 351.

Sichtung trat die Morphologie der Einzelindividuen in ihre Rechte, bezüglich ihrer Gestalt, ihrer Bewegungsorgane und ihrer eventuellen Unbeweglichkeit. Letztere Aufschlüsse ergaben dann die Gattungen Bacterium, Pseudomonas, Bacillus resp. Coccus und dessen Varianten. Die Sporenbildung bei den Stäbchenbakterien gab auch weitere und charakteristische Diagnosemomente. In dritter Linie wurden erst die kulturellen Eigenschaften auf Gelatine- und Agarplatten in Betracht gezogen, dann als letzterer und manchmal nicht unwesentlicher Punkt diente Gelatine- und Agarstrich. Trat nun bei verschiedenen Stämmen eine völlige Uebereinstimmung in dieser physiologischen, morphologischen und kulturellen Hinsicht zutage, wurde die Identität ausgesprochen. Auf nebensächliche Umstände, wie stärkere oder schwächere Indolbildung, Nitritbildung, Gärung, Säuerung, Peptonisierung etc. konnte und kann nie Rücksicht genommen werden, da eine Arbeit mit 350 Bakterienstämmen eine Unmenge Zeit beanspruchen würde und übrigens diese Punkte von sehr untergeordneter, ja belangloser Bedeutung sind.

Die 14 unbekannten Stämme wurden dann für sich etwas eingehender untersucht; einer kurzen Beschreibung dieser Stämme, die sämtlich die Milch verändern, ist in den folgenden Zeilen Raum gegeben.

No. 1. Coccus.

Fundort: Milch, Streu, Kot.

Milchkultur: Nach 8 Tagen bei 37°: Schwach saure Reaktion, beim Erwärmen gerinnend.

10 Proz. Gelatineplatten: Am 3. Tage erscheinen größere und kleinere weiße, rundliche Tiefen- und Oberflächenkolonieen. Beide sind, mikroskopisch betrachtet glattrandige, feingekörnte Scheiben. Später nehmen sie an Durchmesser etwas zu, behalten aber immer ihre homogene feinkörnige Struktur.

10 Proz. Gelatinestich: Um die Stichöffnung bildet sich nach 8 Tagen eine 5 mm im Durchmesser fassende, blumenartige, perigonartige, in der Mitte eingesunkene völlig weiße Kolonie, die blumenartigen Ausbuchtungen sind glattrandig. Nach 3 Wochen ähnelt die Kolonie ganz und gar dem Perigon von Veronica.

10 Proz. Gelatinstrich: Schon am 3. Tage vollzieht sich längs des Impfstriches eine Peptonisierung des Nährbodens.

Agarstrich: Ein völlig weißer, glänzender, erhabener, fadenziehender Belagstreifen.

Formen in junger Kultur: Kokken, Durchmesser bis 1,2 μ, meist in Häufchen zusammenliegend, manchmal Tetraden und Diplokokken bildend.

Bouillonkultur: Innerhalb 24 Stunden tritt Trübung ein, die immer erhalten bleibt, am 8. Tage ein fadenziehendes weißes Sediment vorhanden.

Morphologischer Befund wie in Agarstrichkultur.

Kartoffeln: War kein Wachstum zu erzielen.

No. 2. Pseudomonas liquefaciens.

Fundort: Milch, Kot, Streu.

Milchkultur: 32—34° C. Ausfällung des Kaseins, dann Auflösung desselben, alkalische Reaktion.

10 Proz. Gelatineplatten: Am 3. Tage: Kleine, runde pünktchenförmige grauweiße Tiefkolonieen und etwas größere runde Oberflächenkolonieen, Oberflächen- wie Tiefenkolonieen sind bei 80-facher Vergrößerung völlig glattwandige, schwarz konturierte feingekörnte Scheiben. Am 12. Tage ist um und über allen Kolonieen eine runde Verflüssigung eingetreten, Form und glatter Rand sind beibehalten.

10 Proz. Gelatinestich: Am 3. Tage beginnt eine schalenförmige Verflüssigung um die Stichöffnung, die dann horizontal weiterschreitet. Die peptonisierte Gelatine ist trübe, mit Bakterienhäutchen bedeckt.

Agarstrich bei 37,5°: Ein ziemlich breiter, grauweißer, speckartig glänzender, gallertartig, fadenziehender Belagstreifen.

Eine 1—2 Tage alte Agarkultur bei 37,5° zeigte lebhaft bewegliche Bakterien, 1—2 polare Geißeln waren vorhanden, die Stäbchen waren bis 2,6 μ lang und alle 0,6 μ breit.

Bei Zimmertemperatur ist das Wachstum des Agarstriches nur ein sehr dürftiges.

Traubenzuckerbouillon: Die anfängliche Trübung wird beibehalten, es bildet sich nur ein sehr kleines Sediment.

Die Stäbchen erreichen in diesem flüssigen Stadium eine Länge bis 7 und eine Breite von 1,2 μ.

No. 3. Coccus liquefaciens.

Fundort: Milch, Kot, Streu.

Milchkultur: Fällung des Kaseins, dann Auflösung desselben, alkalische Reaktion.

10 Proz. Gelatineplatten: Nach 10 Tagen war auf allen 3 Verdünnungen kein Wachstum zu bemerken.

10 Proz. Gelatinestich: Nach 10 Tagen ist ein kaum merkbares Wachstum zu verzeichnen, später bemerkt man eine kleine Nagelkultur, nach 4 Wochen ist eine schwache Verflüssigung eingetreten.

10 Proz. Gelatinestrich: Nach 8 Tagen ist ein schmaler homogener, rein zitronengelber Impfstrich sichtbar, längs desselben beginnt die Verflüssigung.

Agarstrich bei 18—20°: Ein rein zitronengelber, nicht besonders breiter, erhabener, an den Rändern quergefalteter, glänzender, etwas fadenziehender Belag ist längs des Impfstriches herangewachsen.

Die Kokken sind isodiametrisch von 0,85 μ Durchmesser, meist in Häufchen zusammenliegend.

Bei 37,5° ist das Wachstum bedeutend üppiger.

Bouillonkultur: Ein Wachstum trat nicht ein, ebenso nicht auf Kartoffeln.

No 6. Bacterium.

Fundort: Milch, Kot, Streu.

Milchkultur: 32—34°. Peptonisierung ohne Fällung des Kaseins, deutliche alkalische Reaktion.

10 Proz. Gelatineplatten: Am 3. Tage: Kleine runde, glattrandige homogen gekörnte Tiefenkolonieen, die Oberflächenkolonieen sind noch glänzend, trocken, breiig und ockergelb tingiert. Die Stäbchen in diesen Kolonieen sind 1,75—3,5 μ lang und 1,2 μ breit.

10 Proz. Gelatinestich: Nach 12 Tagen ist nur im Kanal reichliches Wachstum zu verzeichnen, Oberflächenwachstum sehr dürftig.

Agarstrich: Nach 3 Tagen bei Zimmertemperatur: Ein breiter, erhabener, glänzender, ockergelber, trockenbreiiger Belagstreifen.

Kartoffelkultur: Wachstum nicht vorhanden. Cilien waren in keinem Nährmedium nachweisbar.

No. 7. Pseudomonas.

Fundort: Streu, Kot, Gras.

Milchkultur: 32—34°. Peptonisierung ohne Fällung des Kaseins, nur alkalische Reaktion.

10 Proz. Gelatineplatten: Am 10. Tage bei 16—18° bedecken $^1/_2$ mm im Durchmesser fassende, glänzende, schmutziggelbe, kuppenförmige, wassertröpfchenähnliche durchscheinende Kolonieen die Gelatineoberfläche, die Tiefenkolonieen bilden rund glattrandige Scheiben. Bei 80-facher Vergrößerung sind die in der Gelatine befindlichen Kolonieen rund, glattrandig, mehrfach konzentrisch geschichtet und feingekörnt, die kuppenförmigen Oberflächenkolonieen sind den Tiefenkolonieen völlig ähnlich.

Nach 10 Tagen breiten sich die Oberflächenkolonieen flach aus bis 10 mm im Durchmesser, sind sehr dünn, bläulich schimmernd, perlmutterartig und besitzen breiige Konsistenz, sie ähneln völlig den Kolonieen der flach ausgebreiteten Pseudomonas coli.

Mikroskopisch betrachtet, zeigen die Oberflächenkolonieen gleichmäßig wellig verschlungene Struktur, der Rand ist ausgebuchtet, hell und durchsichtig. Die Individuen einer Obenflächenkolonie sind im hängenden Tropfen lebhaft beweglich, sie besitzen durchschnittlich eine, öfters zwei, selten drei polare Geißeln; die Länge der Stäbchen geht bis 2,6 μ, 0,6 μ sind sie alle breit.

10 Proz. Gelatinestich: Nach 10 Tagen ist die ausgebuchtete, grauweiße Kolonie eingesunken; die Gelatine beginnt sich zu verflüssigen.

Agarstrich: Wachstum bei 18—20° sehr kräftig, ein grauweißer, breiter, flacher, glänzender Belagstreifen nach 8 Tagen vorhanden.

Traubenzuckerbouillon: 48 Stunden bei 18—20° bewirken eine Trübung, die immer stärker wird, am Boden sammelt sich ein voluminöses, flockiges, grauweißes Sediment.

Kartoffelkultur bei 34°. Nach 3 Tagen sind schmutzigbraune, matte, breiige erhabene Impfstreifen, die Kartoffeln selbst sind nach 14 Tagen dunkelcyanblau gefärbt.

No. 10. Torula.

Fundort: Milch, Kot.

Milchkultur: Nach 3 Wochen bei 18—20° schwache Peptonisierung mit alkalischer Reaktion.

Eine weitere Untersuchung wurde nicht vorgenommen.

No. 13. Coccus liquefaciens.

Fundort: Milch, Streu.

Milchkultur: Nach einigen Tagen Ausfällung des Kaseins, unbedeutende Auflösung desselben, Reaktion schwach alkalisch. Kokken bis 1,75 μ Durchmesser, Diplokokken, Triaden und Tetraden bildend.

10 Proz. Gelatineplatten: Am 3. Tage: Kleine, runde, weißliche Tiefenkolonieen, über denen die Gelatine verflüssigt ist, die Oberflächenkolonieen sind ebenfalls rund. Bei 80-facher Vergrößerung erscheinen die Tiefenkolonieen als runde, glattrandige, feingekörnte Scheiben.

10 Proz. Gelatinestich: Am 4. Tage um die Stichöffnung eine schalenförmige Verflüssigung, auf dieser ein fadenziehendes weißes Häutchen schwimmend, im Kanal gewöhnliches Wachstum.

Die verflüssigte Gelatine ist trübe, fadenziehend und von sehr dicker Konsistenz.

10 Proz. Gelatinestrich: Innerhalb 3 Tagen vollständige Verflüssigung, Gelatine trüb, fadenziehend und dick.

Agarstrich: 4 Wochen alt bei 18—20° C. Ein breiter weißer, glänzender, flach ausgebreiteter, fadenziehender Belagstreifen.

In jungem Agarstrich sind ausschließlich isodiometrische Kokken von 0,85 μ Durchmesser vorhanden, meist Häufchen bildend.

Agar-Tupfkolonieen: Die Tupfkolonieen sind rund, oval, manchmal ausgebuchtet, grauweiß, konzentrisch geschichtet, glänzend und fadenziehend.

Bouillonkultur bei 37,5°: Innerhalb 24 Stunden starke Trübung, die erhalten beibt, am 8. Tage schleimiges und fadenziehendes Sediment vorhanden.

In diesem Nährmedium geht dieser Coccus zur Streptokokkenbildung über.

Kartoffelkultur: Kein Wachstum zu erzielen.

No. 18. Micrococcus roseus n. sp.

Fundort: Milch, Gras, Kot.

Milchkultur: Peptonisierung der Milch bei Zimmertemperatur ohne Fällung des Kaseins; alkalische Reaktion.

10 Proz. Gelatineplatten: Nach 10 Tagen ist nur ein schlechtes Wachstum vorhanden, es sind nur ganz kleine, schwach rosarote, durchscheinende Oberflächenkolonieen wahrnehmbar, die bei 80-facher Vergrößerung kreisrund, glattwandig, feinkörnig erscheinen.

10 Proz. Gelatinestich: Eine kleine, aber deutliche Nagelkultur nach 8 Tagen, um die Stichöffnung ist eine 3—4 mm im Durchmesser fassende konzentrisch geschichtete, rundliche, rosafarbige Auflagerung entstanden, im Kanal nur schwaches Wachstum, Nach 5 Wochen keine Verflüssigung vorhanden.

10 Proz. Gelatinestrich: Das Wachstum ist das gleiche wie auf Agar.

Agarstrich: Nach 4 Wochen: Ein dunkelrosaroter, breiter, flacher, glänzender Belagstreifen von breiiger Konsistenz.

Die Kokken in junger Kultur sind semmelförmig, bis 0,6 μ im Durchmesser, sie bilden Diplokokken und Tetraden.

Bouillonkultur: Nur in solchen mit Traubenzucker bildet sich ein kleines weißliches Sediment.

Kartoffelkultur: Kein Wachstum zu erzielen.

No. 19. Bacterium.

Fundort: Streu, Milch.

Milchkultur: Nach 4—5 Tagen bei 18—20° Ausfällung des Kaseins, allmähliche Auflösung desselben mit Rotfärbung des Serums.

10 Proz. Gelatineplatten: Am 4. Tage bei 16—18° C: Kleine runde, weiße Tiefenkolonieen und 1—2 mm im Durchmesser fassende, runde, in der Mitte erhabene,

rötlich-weiße, glänzende, breiige Oberflächenkolonieen. Bei 80-facher Vergrößerung sind Oberflächen- und Tiefenkolonieen völlig rund, glattwandig und homogen gekörnt.

Einige Tager später sinken die Oberflächenkolonieen in die Gelatine ein, die letztere ist um die Kolonieen herum konzentrisch verflüssigt, der Rand der eingesunkenen Kolonieen erscheint zerfressen, die Kolonieen selbst haben dunkelcrême bis fleischfarbige Tinktion angenommen.

10 Proz. Gelatinestich: Nur um die Stichöffnung bildet sich ein rundliches, rosafarbiges, breiiges Gebilde, im Stichkanal fehlt jedes Wachstum.

Agarstrich: Nach 3 Tagen bei 18—20°: Ein flachrund-gebreiteter, rosafarbiger, glänzender, breiiger Belagstreifen.

Die Stäbchen aus jungen Kulturen, Agar wie Gelatine, sind 1,75 μ lang und 0,4 μ breit.

Kartoffelkultur: Nach 8 Tagen: Ein flacher, dünner, rosafarbiger Belagstreifen.

Bouillon mit Traubenzucker: Ein kaum merkbares Wachstum zu bemerken, indem sich die Flüssigkeit nur schwach trübt.

No. 21. Bacterium liquefaciens.

Fundort: Streu, Milch.

Milchkultur: Nach 4 Wochen bei 18—20° völlige Auflösung des Kaseins mit rötlicher Färbung des Serums, Reaktion alkalisch.

10 Proz. Gelatineplatten: Am 3. Tage: Kleine runde, mehr oder minder große Tiefenkolonieen mit zerfressenem Rande und homogener grober Körnung.

Nach 8 Tagen war die ganze Gelatine erweicht.

10 Proz. Gelatinestich: Bald beginnt eine schalenförmige Verflüssigung um die Stichöffnung, die später sich ansammelnde Bakterienmasse ist crêmefarbig, die verflüssigte Gelatine bleibt klar.

Agarstrich: Nach 8 Tagen bei Zimmertemperatur: Ein crêmefarbiger, glänzender, breiter, erhabener, an den Rändern rundgebuchteter, breiiger Belagstreifen.

Traubenzuckerbouillon: Das Wachstum bleibt nur kärglich, es bildet sich nur ein minimales Sediment.

Die Abmessungen der Stäbchen in diesem Nährmedium betrug 2,6 : 0,85 μ. Bewegung war in keinem Nährboden, auch bei verschiedenen Temperaturen nicht vorhanden.

No. 22. Coccus liquefaciens.

Fundort: Milch.

Milchkultur: Schwache Säuerung bei 18—20°; Gerinnen beim Erwärmen.

Gelatineplatten (10 Proz.). Am 3. Tage. Kleinere und größere Tiefen- und Oberflächenkolonieen. Die Tiefenkolonieen bei 80-facher Vergrößerung besitzen glatten, scharf abgegrenzten Rand und feinkörnige Struktur, die bei den Oberflächenkolonieen mehr grobkörniger wird, der Rand dieser Kolonieen ist nicht mehr glatt, sondern zerfressen.

Gelatinestich (10 Proz.): Eine Verflüssigung bemerkt man erst nach 4 Wochen kreisförmig um die Einstichstelle, ein kleines, gelblichweißes Bakterienhäutchen schwimmt auf der klaren verflüssigten Gelatine. Im Stichkanal entwickelt sich ein üppiges Wachstum. Gelatinestrich (10 Proz.) und Agrarstrich besitzen nach 3 Wochen einen ziemlich quergefalteten, matten, sehr kompakten, trockenen gelblichweißen Belagstreifen; bei ersterer bemerkt man eine Erweichung.

Bouillonkultur erleidet keine Trübung, am Boden entsteht ein weißes, schleimiges und fadenziehendes Sediment. Die Kokken in solcher Kultur sind völlig rund, bis 1,75 μ Durchmesser, bilden Diplokokken und liegen in Häufchen zusammen.

No. 23. Bacterium liquefaciens.

Fundort: Gras.

Milchkultur 37,5°: Nach 3 Tagen gleichmäßiges Koagulum mit starksauerer Reaktion.

Gelatinestich (15 Proz.): Nach 5—8 Tagen erfolgt Verflüssigung, die Bakterienmasse ist sehr schleimig und fadenziehend, verflüssigte Gelatine wird nicht getrübt. Das Wachstum im Kanal ist ein gutes, aber wenig charakteristisch. Ein Färbepräparat weist Stäbchen von 2,6 - 6,1 μ Länge und 0,85 μ Breite auf.

Agarstich bei 18° C. Nach 3 Tagen. Ein rosafarbiger, schleimig aussehender fadenziehender, schmaler, erhabener Belagstreifen. Die Stäbchen zeigen dieselbe Größe wie in Gelatine.

Gelatinestrich (15 Proz.): Nach 4 Tagen ist sämtliche Gelatine peptonisiert. Die Bakterienmasse ist rötlichweiß.

Kartoffelkultur: Braunrote. matte, fadenziehende, dicke Belagstreifen nach 8 Tagen bei Zimmertemperatur.

Bouillonkultur bei 18°: Die eingetretene Trübung bleibt erhalten, mit der Zeit bildet sich ein mißfarbiges, grauweißes, sehr schleimiges und fadenziehendes Sediment.

An Größe besitzen hier die einzelnen Individuen bis 17,5 μ und an Breite 0,85 μ. Irgendwelche Bewegung konnte nicht festgestellt werden.

No. 26. Bacterium.

Fundort: Milch, Streu, Gras.

Milchkultur 10 Tage bei 18—20°: Peptonisierung ohne Fällung des Kaseins, alkalische Reaktion; die Flüssigkeit ist schleimig und fadenziehend. Geruch: Deutlich nach Käse, später nur reiner Fäulnisgeruch.

Gelatineplatten (10 Proz.): Die Oberflächenkolonieen sind nach 7 Tagen stecknadelkopfförmig, kuppenförmig, die Tiefenkolonieen bei 80-facher Vergrößerung: rund, glattrandig, fein bis grobkörnig, manchmal maulbeerartig. Nach 2 Wochen erscheinen die Oberflächenkolonieen konzentrisch geschichtet, besitzen durchschnittlich 1 mm im Durchmesser, sind rund und sehr zähe.

Gelatinestich: Eine 3—4 mm große, runde, völlig weiße, glänzende Kolonie lagerte um die Stichöffnung, die Konsistenz der Kolonieen ist sehr schleimig und fadenziehend. Abmessung der Stäbchen 0,85—1,75 μ.

Agarstrich: Nach 10 Tagen 18—20° C. Ein völlig weißer, glänzender, schleimiger und fadenziehender Belagstreifen.

Traubenzuckerbouillon: Die Bouillon ist nach 10 Tagen bei 18—20° C schwach getrübt, auf derselben schwimmen weiße, sehr schleimige und fadenziehende Bakterienhäutchen.

Eine Bewegung konnte in keinem Nährboden konstatiert werden.

No. 27. Säure-Lab-bildendes Bacterium.

Fundort: Kot, Weideversuch.

Milchkultur bei 18—20° nach 8 Tagen: Ausfällung des Kaseins, dann schwache Auflösung desselben, amphotere Reaktion.

Gelatineplatten (10 Proz.). Am 7. Tage: Größere und kleinere, runde, grünlichweiße Tiefen- und Oberflächenkolonieen.

Bei 80-facher Vergrößerung: Tiefen- und Oberflächenkolonieen: rund, glattrandig, feingekörnt.

Gelatinestich (10 Proz.): Nach 8 Tagen. Kräftiges, nicht charakteristisches Wachstum nur im Kanal vorhanden.

Agarstrich: Nach 14 Tagen bei 16—18°. Ein schmaler, dünner, grauweißer Belagstreifen, der nach 4 Wochen nicht mehr zunimmt.

In dieser Kultur: Kleine, ovale, unbewegliche Stäbchen, die sich manchmal einem Coccus nähern.

Bouillon: Es tritt nur schwache Trübung ein. Bewegung war in keinem Nährsubstrate zu beobachten.

Anschließend dieser kurzen Charakteristik der Stämme folgen die Resultate über die Keimzahlen der Milch, der Streu, des Kotes, des Grases und ihre approximative Verteilung in den genannten Medien. Es wurden im ganzen 12 Versuche angestellt, die sich auf den Zeitraum eines Jahres verteilen und die mit dem Monat Dezember beginnen. Die ersten 5 Versuche fallen in die Zeit der Stallfütterung vor dem Weidegange, die letzten 3 nach dem Weidegange, während Versuch 6, 7, 8, 9 sich auf die Weidegangsperiode verteilen.

Versuch I. Stallfütterung. Monat Dezember.

Die Keimzahl pro 1 ccm Milch betrug 18500 auf Gelatine, in Agar 25000. Am meisten traten Bacillus subtilis und Micrococcus flavescens H. in den Vordergrund, weniger an Zahl waren Bacterium erythrogenes, Pseudomonas coli, Bacterium aërogenes, Coccus No. 3 vertreten. Milchsäurebakterien, Hefearten, Oidium fanden sich vereinzelt ein.

23000000 Keime besaß 1 g Streu auf Gelatine, 50000000 in Agarplatten. Die fluoreszierenden Gruppen stellten hier den Hauptprozentsatz, dann folgten Bacillus

subtilis, *Bacillus mycoides*, *Milchsäurebakterien*, *Bacterium No. 6*, sehr wenig vertreten waren: *Pseudomonas coli* und *Bacterium aërogenes*, *Bacterium erythrogenes* und *Bacillus mesentericus vulgatus*.

Der zur Untersuchung angewandte Kot war schon etwas länger gefallen, er ergab pro 1 g 7650000 in Gelatine, in Agarplatten 60000000 Keime. *Bacillus subtilis*, *Micrococcus pallidus H.*, waren die vorherrschenden, weniger stark traten hervor: *Peudomonas coli*, *Bacterium erythrogenes*, noch spärlicher fanden sich ein: *Bacillus mesentericus*, *Pseudomonas No. 2*, *Bacterium No. 6*, und *Bacterium No. 16*.

Versuch II. Stallfütterung. Monat Januar.

5000 Keime in Gelatine, 6800 in Agar kommen auf 1 ccm Milch. *Coccus No. 1* und *Coccus No. 3* gewannen hier die Oberhand, *Milchsäurebakterien*, *Bacillus subtilis*, *Sarcina liquefaciens* Frkld., die *fluoreszierende Gruppe* trat in sehr untergeordneten Zahlen auf.

Der während des Melkens erhaltene Kot ergab auf Agar wie Gelatine 1000000 Keime, von denen *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas coli* und *Bacterium aërogenes* sehr überwiegend waren, in wenigen Exemplaren fanden sich *Bacillus mesentericus* und *Streptothrix odorifera* vor.

Streu hatte 3140000 in Gelatine und 35000000 Keime in Agar pro 1 g aufzuweisen.

Die Gruppe der *fluoreszierenden* Bakterien hatten auf Gelatine, die sporulierenden Arten, wie *Bacillus subtilis*, *mycoides*, *mesentericus* in Agar die Oberhand. Aufzufinden waren noch: *Milchsäurebakterien*, *Coccus No. 1*, *Coccus No. 3*, *Pseudomonas No. 2*, *Bacterium aërogenes*, *Bacterium No. 26*, *Coccus No. 13*. *Sarcina liquef.* Frkld.

Versuch III. Stallfütterung. Anfangs Februar.

1 ccm Milch enthielt auf Gelatine 13000 und auf Agar 26000 Keime. Von den 13000 Keimen stellte *Bacterium aërogenes* das Hauptkontingent, in weit geringeren Mengen waren vertreten: *Bacillus subtilis*, *Micrococcus flavescens H.* und *Coccus No. 1*. Auf Agarplatten kam *Bacterium erythrogenes* ebenfalls in der Hauptmenge vor, etwas weniger *Micrococcus pallidus H.*, *Coccus No. 1*, vereinzelt tauchte *Pseudomonas No. 2* und *Coccus No. 3* auf.

256000000 Keime besaßen 1 gr Streu in den Gelatineplatten. Den größten Prozentsatz, etwa 60 Proz., stellte wiederum *Bacterium erythrogenes*, ungefähr 27 Proz. kamen *Micrococcus pallidus* zu, die übrigen 13 Proz. verteilen sich auf: *Bacillus subtilis*, die *fluoreszierenden* Gruppen, *Pseudomonas coli*, *Bacterium aërogenes*, ferner auf die vereinzelt vorkommenden Arten: *Bacterium No. 6*, *Pseudomonas No. 7*, *Coccus No. 8*, *Bacterium No. 9* und *Penicillium*. *Pseudomonas coli*, *Bacterium aërogenes* waren am meisten auf den Agarplatten vertreten, *Bacillus subtilis* trat sehr in Hintergrund; die Keimzahl erreichte hier 442000000.

Der Kot, der als frisch gefallener zur Untersuchung kam, enthielt pro Gramm auf gewöhnlicher Gelatine 900000, auf Molkengelatine 1090000 und auf Agar 1025000 Keime. Auf allen 3 Nährmedien gehörte *Bacillus subtilis* zu der vorherrschenden Art, *Bacterium erythrogenes* fand sich nur in gewöhnlicher Gelatine und Agar vor, in etwas geringerer Menge, *Pseudemonas coli*, *Bacterium aërogenes*, *Pseudomonas No. 2* und eine indifferente *Torula* vervollständigten die Keimzahl.

Versuch IV. Stallfütterung. Anfangs April.

Von 21000 Keimen in Milch auf den Gelatineplatten fielen 17000 Keime *Bacterium erythrogenes* zu, weniger ungefähr zu gleichen Teilen, waren *Bacillus subtilis* und *Coccus No. 1* anwesend, vereinzelt bemerkte man einige *Oidien*. Zwei Drittel von 22000 Keimen auf Agar beanspruchten die Kolonien der *Milchsäurebakterien*, der Rest entfiel auf *Bacterium No. 9*, *Coccus No. 1*, *Coccus No. 3* und *Pseudomonas coli*.

1 g Streu hatte auf Gelatine 64000000 Keime, von denen der größte Prozentsatz auf *Bacillus subtilis* fiel, in geringeren Mengen trat die *fluoreszierende* Gruppe und *Bacterium erythrogenes* auf. *Coccus No. 1*, *Coccus No. 3* und *Bacterium No. 6* waren noch in geringeren Mengen anwesend. 265000000 erreichte die Keimzahl auf den Agarplatten, welche Zahl sich beinahe aus gleichen Teilen *Milchsäureerregern* und *fluoreszierenden* Bakterien zusammensetzte, ferner fanden sich ein: *Bacterium erythrogenes* und *Micrococcus pallidus H.*

Der schon längere Zeit gefallene Kot ergab pro Gramm in Gelatine 3000000 und in Agar-Agar 120000000 Keime. Die Gelatinekeime bestanden der Hauptsache nach aus 3 zu gleichen Teilen vorhandenen Arten: Bacillus subtilis, Bacillus mesentericus vulgatus und Colibakterien, geringer war die Zahl des Bacterium aërogenes, Bacterium erythrogenes, der Streptothrix odorifera, vereinzelt traten Coccus No. 1, Coccus No. 3 auf.

Von den 120 Mill. Agarkeimen behauptete Bacillus subtilis die Vorherrschaft, dann folgte Bacillus erythrogenes, Coccus No. 3, geringer war die Zahl der Kolonieen von Pseudomonas coli und Bacterium aërogenes.

Versuch V. Stallfütterung. Anfang Mai.

Die Milch hatte eine Keimzahl von 13000 in Gelatine und eine solche von 15000 in Agar. Micrococcus pallidus H. und Micrococcus flavidus waren in größeren Zahlen, Streptothrix, Coccus No. 13, Micrococcus flavescens H. Bacillus mycoides und Bacillus subtilis in sehr untergeordneten Mengen in der Keimzahl von 13000 enthalten. Ein ähnliches Bild gab die Agarzahl, nur schien Micrococcus pallidus H. das Hauptkontingent zu stellen.

1300000 Keime der Streu verteilen sich folgendermaßen: Zu gleichen Teilen am meisten vorhanden: Bacterium No. 6 und Milchsäurebakterien, bedeutend weniger die fluoreszierende Gruppe, in noch geringeren Mengen Bacillus mesentericus vulgatus, Coccus No. 15. Auf Agarplatten erreichte die Keimzahl 36 Mill. Am meisten traten hier die Kolonieen von Bacterium No. 6 zutage, bedeutend weniger: die Gruppe der Milchsäurebakterien, der Kartoffelbacillusgruppe, Coccus No. 13 und Bacterium aurescens Frkld.

Bei der Kotanalyse kam frischer Kot zur Untersuchung, demgemäß war auch der Bakteriengehalt ein sehr niederer im Vergleich zu den Fällen, in denen älterer Kot in Arbeit genommen werden mußte. 460000 kamen auf 1 g in Gelatinekulturen, welche Zahl aus beinahe je ein Drittel Bacillus subtilis, Bacterium No. 16 und Micrococcus flavescens resultierte, wenig kam Pseudomonas coli und Bacterium aërogenes zur Geltung. Auf Agarplatten mit 1000000 Keimen trat Bacterium No. 6 in überwiegender Menge auf, weniger zahlreich Bacterium No. 16, Bacterium aërogenes, Pseudomonas coli. In geringer Zahl fanden sich ein: Streptothrix odorifera und Sarcina liquefaciens Frkld. Am 27. Mai morgens kamen die Kühe auf die Koppel, die Periode des Weideganges begann.

Versuch VI. Weidegang. 30. Mai nachmittags.

Die Bakterienmenge in Gelatine und Agar war beinahe gleich, sie betrug 980 resp. 990 Keime. In sehr überwiegender Menge dominierten Pseudomonas coli und Bacterium aërogenes, sehr wenig kam Bacterium erythrogenes, Bacillus subtilis und Sarcina liquefaciens Frankland zum Vorscheine, vereinzelt wurden gefunden: Micrococcus No. 18 und Micrococcus pallidus H.

Statt Streu kam in der Periode des Weideganges das Gras der betreffenden Koppel zur Untersuchung. 1 g Gras zeigte auf Gelatine 71000 und auf Agar 175000 Keime. Auch hier traten Bacterium aërogenes und Pseudomonas coli sehr in Vordergrund, der Anzahl nach folgten dann Rosahefe, Bacterium No. 19, die fluoreszierende Gruppe, Coccus No. 1, Micrococcus pallidus H, Pseudomonas No. 7, Sarcina liquefaciens und Bacterium fulvum Mig. hatten eine untergeordnete Rolle.

Frischer Kot enthielt 3300000 Gelatine und 4100000 Agarkeime pro Gramm. Die Hauptmenge stellte hier wieder Bacterium aërogenes und Pseudomonas coli, geringe Quantitäten fielen einer Rosahefe, Bacterium erythrogenes und Coccus No. 9 zu, während Sarcina liquefaciens, Bacillus subtilis und Coccus 1 die Minderzahl vertraten.

VII. Versuch. Weidegang. Mitte Juni.

Die Keimzahl verringerte sich auf je 590 Gelatine- und Agarkeime. Beide Nährmedien enthielten am meisten Milchsäurebakterien, Micrococcus pallidus H. und Coccus 1, Sarcina liquefaciens und Bacterium erythrogenes kamen kaum zur Geltung.

695000 Gelatinekeime kamen auf 1 g Gras. Die beiden Hauptgruppen bildeten Torula 10 und die fluoreszierenden Arten, der Zahl nach sehr untergeordnet kam Coccus No. 8 und Coccus No. 1 in Betracht; vereinzelt waren die Kolonieen von Milchsäurebakterien, Oidien und Schimmelpilzen. 855000 Keime kamen in Agar zur

Entwickelung, Rosahefe im Verein mit Coccus No. 18 erreichten beinahe die Keimzahl. Vereinzelt fanden sich Coccus No. 1, die fluoreszierende Gruppe, Bacterium No. 6 und Micrococcus pallidus H.

Die Gelatineplatten von Kot wiesen einen Keimgehalt von 1000000, die von Agar einen solchen von 1800000 auf. Die erstere Keimzahl setzt sich zusammen aus ungefähr gleichen Teilen von Coccus No. 8, Coccus No. 18 und Micrococcus pallidus H., einzeln fanden sich ein: Coccus 1 und Bacterium erythrogenes. Von den 1800000 Keimen auf Agar fiel die eine Hälfte auf Sarcina liquefaciens, die andere auf Micrococcus No. 18, die fluoreszierende Gruppe, Coccus No. 1 zeigte sich vereinzelt.

VIII. Versuch. Weideversuch Mitte Juli.

Der Keimgehalt der Milch war auch wieder geringer, 400 Keime kamen beiden Nährmedien zu. Vertreten waren hauptsächlich Bacterium 21, Coccus No. 22, Micrococcus pallidus H., vereinzelt tauchte Torula No. 10 und Streptothrix odorifera auf.

397000 Keime in Gelatine und 680000 in Agar kommen bei diesem Versuche auf 1 g Gras. Die Hauptanzahl stellte Bacterium 23, 25, Bacterium 6 und Rosahefe, weniger kam die fluoreszierende Gruppe, die Rosahefe und Coccus No. 18 vor, Micrococcus pallidus fand sich nur in einzelnen wenigen Exemplaren.

Die Keimzahl des frischen Kotes ergab 635000 in Gelatine und in Agar 1100000. Bacillus mesentericus vulgatus drängte sich diesmal sehr in den Vordergrund, Micrococcus pallidus folgte an zweiter Stelle. In geringen Mengen waren Bac. subtilis, Coccus 18 und Coccus 8 zu ermitteln.

IX. Versuch. Weideversuch Mitte September.

Ermäßigt hat sich wiederum die Keimzahl der Milch, 375 Gelatine- und 430 Agarkeime enthält 1 ccm. Zwei Drittel dieser Zahlen nimmt Torula No. 10 in Anspruch, das letzte Drittel ergeben Micrococcus pallidus H., Coccus No. 8, Oidium lactis, Bacterium erythrogenes, Bacillus mycoides und Bacterium No. 6.

Gras ergab pro Gramm 2040000 Gelatine- und 2380000 Agarkeime. Die fluoreszierende Gruppe stellte das Hauptkontingent, weniger an der Zahl waren aufzufinden: Pseudomonas coli, Bacillus mycoides, Bacterium fulvum M., Bacterium erythrogenes, Bacterium No. 6 und die Rosahefe. Vereinzelt kamen in Betracht: eine braune Hefe und Bacterium No. 26. Unter den fluoreszierenden wurde auch Pseudomonas fluorescens aureus ermittelt.

Die Kotbakterien bestanden in der Mehrzahl aus Micrococcus pallidus H., dann ungefähr aus je 150000 Keimen von Bact. erythrogenes, Pseudomonas coli und Torula No. 10, bedeutend weniger, manchmal einzeln, waren aufzufinden: Bacterium No. 17, Bacterium No. 27, Bacillus mesentericus vulgatus, Bacillus mycoides, Bacterium No. 6. Die Summe der Keime betrug auf beiden angewandten Nährmedien je 1500000. Der Kot, der zur Differenzierung kam, war während des Melkens gefallen.

X. Versuch. Stallfütterung Ende September, nachdem die Kühe 3 Tage im Stalle waren.

Die Keimzahl für 1 ccm Milch ist weiter zurückgegangen auf 275 resp. 300 auf Agar. Auch hier steht Torula No. 10 und Micrococcus pallidus Henrici oben an, vereinzelt traten auf Bacterium No. 6, Coccus No. 29 und Micrococcus aurantiacus Schröder.

1 g frischer Kot enthielt 1070000 in Gelatine und 1500000 Keime auf Agar bei 37,5° C. Pseudomonas coli trat auf beiden Nährmedien in der Hauptsache hervor, hierauf folgte Micrococcus pallidus Henrici, Coccus No. 1, die fluoreszierende Gruppe; ab und zu waren zu finden Micrococcus acidi lactici Marpmann, Bac. mesentericus vulgatus, Bacterium No. 6, Sarcina liquefaciens und Bacterium cereum Frankland.

In Streu betrug die Keimzahl 24000000 in Gelatine. Hier trat die fluoreszierende-peptonisierende Gruppe sehr hervor, dann Pseudomonas coli. In untergeordnetem Maßstabe zeigen sich Coccus No. 8, Milchsäurebakterien, Rosahefe, Micrococcus acidi lactis Marpmann, Bacterium No. 6 und Bacillus subtilis.

Auf den Agarplatten mit 40000000 Keimen war Pseudomonas coli in überwiegender Zahl vorhanden, dann in geringerer Menge die fluoreszierende-peptoni-

sierende Gruppe. Anzutreffen waren noch Coccus No. 1, Micrococcus pallidus Henrici und Bacillus subtilis.

XI. Versuch. Stallfütterung.

Mitte November, nachdem die Kühe die Stallfütterung während 6 Wochen erhalten hatten.

Die Milch hatte die ungefähre Keimzahl erreicht wie in Versuch V, 12500 pro 1 ccm, auf Agarplatten hatte sich die Zahl auf 19300 erhöht. Micrococcus pallidus Henrici und Coccus No. 1 bilden die Hauptbestandteile der Keimzahl auf Gelatine, weniger zahlreich vorhanden: Torula No. 10, Coccus No. 8 und Bacterium erythrogenes. An Zahl sehr untergeordnet erschienen Micrococcus luteus Schröder und Micrococcus flavescens Henrici. Auf Agarplatten war Coccus No. 1 in überwiegender Menge anwesend, geringer waren vertreten Milchsäurebakterien, Bacillus subtilis, Bacterium erythrogenes. Untergeordnete Zahlenbedeutung fiel Micrococcus acidi Marpmann, Sarcina liquefaciens Frankland, Micrococcus pallidus Henrici zu.

Die Mikroorganismen von Streu betrugen 12000000 pro Gramm in Gelatine. Ziemlich gleichmäßig und hauptsächlich waren vertreten: Bacillus mesentericus vulgatus, Pseudomonas coli, Bacterium No. 6, Coccus No. 1. In geringerer Anzahl: die fluoreszierende Gruppe, Coccus No. 8, Bacillus subtilis, Bacillus mycoides. Vereinzelt finden sich ein: Bacterium erythrogenes, Coccus No. 13, Coccus No. 15 und Sarcina alba. Bei den Agarplatten erreichte die Keimzahl die Höhe von 56000000, im großen und ganzen war die Bakterienflora dieselbe wie auf Gelatine, nur hatte Bacillus mesentericus vulgatus die Oberhand gewonnen.

Kot kam frisch gefallen zur Verarbeitung, die Keimzahl pro 1 g belief sich auf 1600000 auf Gelatine, während Agarplatten 1800000 Keime erkennen ließen. Auf den Gelatineplatten trat Micrococcus pallidus Henrici in den Vordergrund, in zweiter Linie kamen Bacillus mesentericus vulgatus, Torula No. 10, Bacillus subtilis in Betracht, vereinzelt wurden wahrgenommen Pseudomonas coli, Bacterium cereum Frankland, Coccus No. 1, Sarcina lutea. Bacillus subtilis und mycoides dominierten auf den Agarplatten, ferner fanden sich ein: Torula No. 10, Bacterium No. 12, Sarcina lutea, Micrococcus pallidus und flavescens und Bacterium cereum.

XII. Versuch. Stallfütterung. Mitte Dezember.

Durch die 10-wöchige Fütterung hatte die Keimzahl in Milch die Höhe von 29000 auf Gelatine und von 48000 auf Agar erreicht. Den höchsten Prozentsatz der Keimzahl beanspruchte Bacterium erythrogenes, bedeutend weniger waren Bac. subtilis mycoides, Coccus 1, Coccus 3, Bacterium aurescens, Milchsäurebakterien, Oidien und Penicillien anzutreffen.

Streu ergab pro 1 g auf Gelatine 18000000, auf Agar 48000000 Keime. Neben den vorherrschenden Gruppen des Bacillus subtilis, mycoides, der fluorescierenden Bakterien waren Milchsäurebakterien, Coccus 1, Pseudomonas 2, Micrococcus pallidus, Bacterium aurescens, Sarcina liquefaciens Frkld. in abwechselnden Mengen anwesend.

Länger gelegener Kot zeigte eine Keimzahl von 18650000 in Gelatine und 49000000 auf Agarplatten. Bacillus mesentericus, mycoides stellten die Hauptanzahl, weniger an Zahl waren Coccus 8, Coccus 13, Pseudomonas coli und Bacterium aërogenes. Vereinzelt fanden sich ein: Torula 10, Pseudomonas 2, Bacterium 6.

(Siehe Tabelle p. 415.)

Verfolgt man in gegebener Tabelle I die einzelnen Keimzahlen der Milch, so sieht man deutlich, wie nach der Stallfütterung bei Versuch VI schon sich die Keimzahlen verjüngen, um später bei Versuch XI, nachdem die Stallfütterung längere Zeit stattgefunden, wieder ungefähr dieselben Zahlen zu erreichen, wie während der ersten Periode der Stallversuche. Ein deutlicher Beweis ist hier erbracht durch die Größe der verschiedenen Keimzahlen, wie die atmosphärische Luft und das Licht die Milch hygienisch beeinflussen. Die höheren Keimzahlen während der

Tabelle I.
Uebersicht der Keimzahlen.

Versuche	Milch		Streu resp. Gras		Kot	
	Gelatine	Agar	Gelatine	Agar	Gelatine	Agar
I.	18 500	25 000	23 000 000	50 000 000	7 650 000	60 000 000
II.	5 000	6 800	3 140 000	35 000 000	1 000 000	1 000 000
III.	13 000	26 000	256 000 000	442 000 000	900 000	1 025 000
IV.	21 000	22 000	64 000 000	265 000 000	3 000 000	120 000 000
V.	13 000	15 000	1 300 000	36 000 000	460 000	1 000 000
			Gras	Gras		
VI.	980	990	71 000	175 000	3 300 000	4 100 000
VII.	590	590	695 000	855 000	1 000 000	1 800 000
VIII.	400	400	397 000	680 000	635 000	1 100 000
IX.	375	430	2 040 000	2 380 000	1 500 000	1 500 000
			Streu	Streu		
X.	275	300	24 000 000	40 000 000	1 070 000	1 500 000
XI.	12 500	19 300	12 000 000	56 000 000	1 600 000	1 800 000
XII.	29 000	48 000	18 000 000	48 000 000	18 650 000	48 000 000

beiden Stallperioden zeigen andererseits zur Genüge, welche Beiträge die Stalluft und Stallhaltung zur Erhöhung der Bakterienzahl pro 1 ccm Milch zu liefern imstande sind. Eine Hauptquelle für die Infektion der Stallluft ist jedenfalls in dem Streumaterial zu suchen, denn die Bakterienmenge eines Grammes Streu erreicht in einzelnen Versuchen, z. B. bei III, 256 und 442 Millionen. Dieser zahlenmäßige theoretische Befund resp. die Korrelation zwischen der Keimzahl der Milch während der Stallperiode und des Weideganges und derjenigen des Streumaterials, bestätigen die längst bekannte Tatsache, daß die Qualität eines Streumaterials sehr mit der Haltbarkeit einer Milch in unmittelbarem Zusammenhange steht.

Die ersten 5 Versuche gewähren im allgemeinen ein einheitliches Bild bezüglich der Arten in Milch, Kot und Streu, die hauptsächlichsten Arten finden sich in dem einen oder anderen Medium immer wieder. Am meisten treten in Vordergrund Bacterium erythrogenes, Bacillus subtilis, Micrococcus flavescens und pallidus, bei Streu außerdem noch die Gruppe der fluoreszierenden Arten, Kot entbehrt der fluoreszierenden Arten, Pseudomonas coli und Bacterium aërogenes machen sich hier mehr bemerkbar, während die Milch diese beiden letztgenannten Kategorien wenig aufweist. Andere Verhältnisse finden sich bei Versuch VI, dem ersten Weideversuch, ein, die beweglichen und unbeweglichen Aërobier, Coli und Aërogenes bilden die Hauptprozentsätze der Keimzahl in Milch, Gras und Kot. Nach dem ersten Weideversuche verlieren diese beiden ersten Gruppen ihre vorherrschende Stellung, eine Torula-Art No. X drängt sich mehr in den Vordergrund, besonders in Milch, bei VII besitzt Gras einen großen Anteil dieser Torula, die sich bei den folgenden Versuchen VIII, IX, X und XI in die Milch eingeschlichen hat, während letztere in der Weidegangperiode die sporulierenden Arten, die sich während der Stallfütterung derselben mitgeteilt haben, beinahe ganz verlieret, um später nach dem Weidegange wieder in der Milch häufiger vorzukommen. Die steten Begleiter der Streu, die fluoreszierenden Arten, finden sich ebenso regelmäßig bei dem Grase der Weidegegend ein, während die Bakterienflora des Kotes in derselben Periode nur einmal bei Versuch VII diese

Gruppe, und da nur in untergeordnetem Sinne, erkennen läßt. Die Rosahefe, die beim ersten Weideversuch auf Gras und ziemlich reichlich in Kot auftrat, kehrt bei den folgenden Versuchen VIII, IX auf Gras und dem ersten Stallversuche auf Versuch X in Streu wieder, bei weiterer Stallfütterung verschwindet sie. Die Flora des Kotes änderte sich bei dem ersten Versuche auf der Weide gegenüber dem letzten der Stallfütterung in der ersten Periode insofern, daß auch hier die Gärungserreger Pseudomonas coli und Bacterium aërogenes sich sehr in den Vordergrund drängten, die sporulierenden Arten aber eine untergeordnete Stellung einnahmen, während sie doch in den ersten fünf Untersuchungen der Stallfütterung daselbst das Hauptkontingent der Keimzahl stellten; nach der Rückkehr der Kühe in den Stall errangen sie sich nach und nach wieder ihre erste Stelle. Ebenso wie einzelne Arten in Streu nicht heimisch waren und nur im Gras als Nährsubstrat ihre Existenzbedingungen fanden und umgekehrt, mußte auch der Kot des Weideganges variieren im Vergleich zu dem Stallkote, der aber nach dem Weidegange beinahe von denselben Arten durchsetzt war wie vor demselben. Die Erreger der gelbroten Milch, Bacterium erythrogenes und Micrococcus pallidus, scheinen nach ihrem Vorkommen bei dieser Versuchsserie I—XII ubiquitär zu sein.

Aus den vorhergehenden Betrachtungen der Keimzahlen einerseits und der vorkommenden Bakterienarten in Milch in Kombination mit der jeweiligen Flora der anderen drei Medien andererseits erhellt klar und deutlich, daß 1) die Milch während des Weideganges unbedingt einwandsfreier in bakteriologischer Hinsicht zu nennen ist, als während der Stallhaltung, und daß ferner 2) die Lehre von der aufsteigenden Invasion bezüglich bakterieller Verunreinigung der Milch sich eine Stütze mehr erworben hat.

Originalreferate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Nachdruck verboten.

Kaiser-Wilhelms-Institut für Landwirtschaft in Bromberg.

Gerlach und **Vogel**, Versuche über die Impfung von Leguminosen mit Knöllchenbakterien[1]).

Die Verff. beabsichtigten, durch Versuche festzustellen, wieweit die Böden in den Provinzen Posen und Westpreußen so arm an wirksamen Knöllchenbakterien sind, daß eine Impfung des Saatgutes mit Reinkulturen empfohlen werden kann, um die Leguminosen in ihrer Entwickelung zu fördern. Für die leichten, hellen, stickstoffarmen Böden des Ostens ist der Anbau von Seradella und Lupinen von größter Bedeutung, um die Böden an Humus und Stickstoff anzureichern. Die Versuche erstreckten sich auf Gefäße, Freilandparzellen und größere Feldstücken und wurden ausgeführt an den Versuchsstationen in Posen und Bromberg, auf den Versuchsgütern Pentkowo und Mocheln, sowie auf Gütern in Posen und Westpreußen.

1) Mitteil. a. d. Kaiser-Wilhelms-Institut für Landwirtschaft in Bromberg. Bd. I. 1908. Heft 2. p. 123.

Zur Ausführung der Gefäßversuche verwandten die Verff. 19 verschiedene Böden. Das Resultat der Versuche war, daß in 2 Fällen der Ertrag an grüner Masse durch die Impfung über 20 Proz. gesteigert wurde, in 12 Fällen waren die Unterschiede zwischen geimpften und ungeimpften Gefäßen gering, in 4 Fällen gaben die geimpften Gefäße geringere Erträge als die ungeimpften. Auf dem einen Boden konnten die Lupinen auf keine Weise zur Entwickelung gebracht werden. In den meisten Fällen wurden auch an den ungeimpften Pflanzen zwar Knöllchen beobachtet, jedoch waren diese an den geimpften Pflanzen zahlreicher und fast immer zu großen Wulsten an der Hauptwurzel vereinigt.

Auf dem Versuchsgut Pentkowo, das guten dunklen Boden enthält, wurden im Jahre 1901 Impfversuche zu Luzerne auf Freilandparzellen ausgeführt. Daß hier ein besonderer Erfolg der Impfung nicht konstatiert werden konnte, hat wohl seinen Grund darin, daß das Jahr 1901 ganz besonders trocken war. Die Luzerne war ganz vertrocknet, brachte aber im zweiten Jahre einen normalen Ertrag. Einen mäßigen Erfolg brachte im Jahre 1903 die Anwendung der Reinkulturen zur Impfung von Erbsen und Bohnen. Bei diesem Versuche mußte aus äußeren Gründen eine Bodenimpfung vorgenommen werden, ein Verfahren, das der direkten Samenimpfung an Sicherheit nicht gleichkommt.

Im Jahre 1906 wurde in Pentkowo ein Impfversuch mit den sogenannten Nitrokulturen von Moore zu Erbsen, Wicken und Klee vorgenommen, der, wie zu erwarten war, die völlige Wirkungslosigkeit dieses Präparates zeigte.

Das Versuchsgut Mocheln bei Bromberg besitzt hellen, leichten, humusarmen Boden, für den besonders der Anbau von Seradella und Lupinen in Frage kommt. Im Jahre 1907 wurde hier auf einem Schlage Seradella in Roggen eingesät und ein Teil derselben mit Hiltnerschen Reinkulturen geimpft. Einige Parzellen dieses Schlages hatten eine Düngung von 2000 kg Kalk pro Hektar in Form von gemahlenem kohlensauren Kalk erhalten. Auf den nicht gekalkten Parzellen konnte eine geringe Impfwirkung festgestellt werden, während die Seradella auf den gekalkten Parzellen einen Mindererstrag lieferte. Die schädliche Wirkung des Kalkes auf die Seradella ist auch sonst schon vielfach beobachtet worden. Auf einem anderen Schlage des Versuchsgutes wurden in demselben Jahre Seradella, Wicken (mit Peluschken) und blaue Lupinen ohne Ueberfrucht angebaut. Einige Parzellen des Schlages erhielten 300 dz Strohhäcksel pro Hektar. Bei der Seradella hatte die Impfung auf den Parzellen ohne Stroh nur einen geringen Erfolg gehabt, während dieser auf den mit Stroh versehenen Stücken viel deutlicher hervortrat. Bei den Wicken konnte ein ausgesprochener Impferfolg verzeichnet werden. Auf den geimpften Flächen war der Bestand bedeutend üppiger, und es konnte beobachtet werden, daß sich der günstigere Einfluß der Impfung nicht nur auf die Wicken, sondern auch auf die beigemengten Peluschken erstreckte. Da die Impfung mit Bakterien für Wicken ausgeführt war, müssen diese demnach auch günstig auf Peluschken wirken. Auch bei den Lupinen war zu beobachten, daß die Strohgabe die Impfwirkung unterstützt hatte. Bemerkenswert war bei diesen Versuchen, daß die Strohgabe ohne Erfolg blieb, wo die Impfwirkung gut war, daß sie aber da zu einer Ertragssteigerung führte, wo die Impfwirkung gering war oder ausblieb.

Gleichzeitig mit diesen Versuchen wurden 23 Versuche in größerem Maßstabe bei praktischen Landwirten in Posen und Westpreußen ausge-

führt. Die Versuchsflächen waren 1 ha groß, wovon die Hälfte geimpft wurde. Als Versuchspflanze diente Seradella, die in Roggen eingesät war. Die Erfolge waren recht verschieden. In einigen Fällen ergab die geimpfte Seradella sogar Mindererträge, die sich jedoch durch ungleichartige Bodenbeschaffenheit erklären lassen. Als Erfolg der Impfung lassen die Verff. nur die Mehrerträge über 10 Proz. gelten und können bei einem Drittel der Versuche solche Erfolge verzeichnen. Man muß nach diesen Versuchen schließen, daß die Böden von Westpreußen und Posen vielfach genügend wirksame Knöllchenbakterien für Seradella und Lupinen besitzen, was auch erklärlich ist, da diese Pflanzen hier seit langem angebaut werden.

Im Jahre 1908 endlich gelangten 2 Versuche mit den neuen flüssigen Kulturen von Dr. Kühn in München zur Ausführung. Der eine Versuch bestand in einer Impfung von gelben Lupinen in Blumentöpfen, die mit Erde gefüllt und vor dem Bepflanzen sterilisiert waren. Durch die Impfung ist nicht allein der Ertrag an grüner Masse und Trockensubstanz, sondern auch der prozentische Stickstoffgehalt der grünen Masse, bedeutend gesteigert wurden. Der andere auf dem Bromberger Versuchsfelde angestellte Impfversuch zeitigte keinen besonderen Erfolg, da eben vermutlich der Boden schon genügend wirksame Knöllchenbakterien enthielt.

Die Verff. kommen auf Grund ihrer Versuche zu dem Schluß, daß da eine Impfung überflüssig ist, wo die Leguminosen bereits gut gedeihen. Ist aber schlechter Stand der Hülsenfrüchte nicht durch die Bodenverhältnisse, Mangel an Kali und Phosphorsäure oder sonstige ungünstige Einflüsse hervorgerufen, so ist eine Impfung zu empfehlen. Das wird der Fall sein auf Neuland, anmoorigem Boden und Moorboden. Außerdem auch auf Boden, der eine Leguminosenart getragen hat, deren Bakterien sich nicht mit denen der anzubauenden vertragen, z. B. Klee und Seradella. Die allgemeine Anwendung der Impfung würde sich noch mehr empfehlen lassen, wenn das Impfmaterial so billig geblieben wäre, wie es früher war.

Vogel und Zeller, Beiträge zur Methodik der bakteriologischen Bodenuntersuchung[1]).

Die Arbeit enthält biologisch-chemische Untersuchungen, die dazu beitragen sollen, einen Einblick in die Abhängigkeit der Stickstoffdüngerwirkung von der Tätigkeit der Bodenbakterien zu gewinnen. Die Untersuchungen wurden nach dem von Remy angegebenen Verfahren durchgeführt. Dieses besteht bekanntlich im wesentlichen darin, daß man Nährlösungen, die den Stoff enthalten, über dessen Wirkung auf dem Felde man sich orientieren will, mit 10 Proz. Erde des in Frage kommenden Feldes beimpft. Die Menge der nach bestimmten Zeiten entstandenen Umsetzungsprodukte wird dann analytisch bestimmt. So wird man in die Möglichkeit versetzt, das bakterielle Verhalten eines Bodens auf einen zahlenmäßigen Ausdruck zu bringen; vorausgesetzt, daß das Verfahren sich als brauchbar erweist. Dieses zu prüfen, hatten sich die Verff. als erste Aufgabe gestellt. Um diese Aufgabe lösen zu können, ist es unbedingt erforderlich, über ein möglichst umfangreiches Zahlen-

1) Mitteil. a. d. Kaiser-Wilhelms-Institut für Landwirtschaft in Bromberg. Bd. I. 1908. Heft 2. p. 167.

material zu verfügen. Die Verff. weisen darauf hin, daß ihre Untersuchungen, deren Umfang noch nicht genügend ist, als orientierende Vorversuche anzusehen seien. Die vorliegenden Untersuchungen erstrecken sich auf die Fäulniskraft und das Stickstoffsammlungsvermögen der herangezogenen Bodenarten. Diese eigneten sich ganz besonders zu derartigen Untersuchungen, da Düngung und Bearbeitung bei ihnen so verschiedenartig waren, daß starke Einwirkungen auf das Bakterienleben erwartet werden mußten. Es war also die Möglichkeit gegeben, zu entscheiden, ob sich diese Aenderungen des Bakterienbestandes des Bodens in der Laboratoriumsuntersuchung anzeigen. Die Bodenproben stammten von verschiedenen Parzellen des Bromberger Versuchsfeldes, über dessen bakteriologisches Verhalten sich die Verff. im Verlauf der Untersuchungen orientieren wollten. Bakterienzählungen wurden zwar vorgenommen, jedoch keine weiteren Schlüsse daraus gezogen.

Zunächst sollte die Fäulniskraft der Bodenproben ermittelt werden. Es wurde Pepton in 1-proz. Lösung der Einwirkung der in den Bodenproben vorhandenen Bakterienflora unterworfen. Der Effekt wurde bestimmt durch Feststellung der aus dem Pepton nach 6 Tagen abgespaltenen Ammoniakmengen. Es konnte festgestellt werden, daß sich zu verschiedenen Zeiten derselbe Boden immer wieder gleichverhielt, und daß Unterschiede zwischen verschiedenen Bodenarten nicht zu erkennen waren. Es ergab sich ferner, daß die Temperatur des Raumes, in dem die Versuchskölbchen aufbewahrt werden, die Fäulniskraft mehr beeinflußt, als selbst durchgreifende Veränderungen der chemisch-physikalischen Beschaffenheit des Bodens. Gerade in der Nähe von 20° C trat der Einfluß auch nur geringer Temperaturschwankungen deutlich zutage. Die auf diese Weise bestimmte Fäulniskraft ist jedenfalls eine biologische Bodenfunktion, die durch Aenderungen des chemisch-physikalischen Bodenzustandes nicht wesentlich beeinflußt wird. In Uebereinstimmung mit Löhnis weisen die Verff. darauf hin, daß das Pepton wegen seiner leichten Zersetzlichkeit zur Feststellung der Fäulniskraft wenig geeignet ist. Es gelangten deshalb zunächst gemahlene Lupinensamen zur Anwendung, von denen man eine bessere Wirkung erwartete. Aber auch sie erwiesen sich als viel zu schnell zersetzlich. Hier stimmten auch die Parallelbestimmungen niemals gut überein, was bei dem Pepton stets der Fall gewesen war. Die Lupinensamen wurden nun durch Hornmehl ersetzt. Hiermit konnten bessere Resultate erzielt werden. Die Zersetzungsvorgänge verliefen langsam. Die Parallelversuche zeigten gute Uebereinstimmung und es konnten bei den verschiedenen Erden deutliche Unterschiede in der Zersetzungsintensität festgestellt werden. Es wurde beobachtet, daß mittelschwerer Versuchsfeldboden das Hornmehl weit energischer zersetzte als Lehm und Sand, und daß Sand den Lehm in dieser Wirkung noch übertraf. Bei trockener Erde verlief die Hornmehlfäulnis energischer als bei feuchtem Boden. Das Hornmehl lieferte also recht brauchbare Hinweise auf die Größe der Fäulniskraft verschiedener Bodenarten.

Zur Feststellung des Stickstoffsammlungsvermögens der Bodenarten wurden je 1 l stickstofffreier in großen Erlenmeyer-Kolben befindlicher Nährlösung, die 5 g Mannit enthielt, mit 10 g Erde beimpft. Nach 34 Tagen wurde die Stickstoffzunahme in der Lösung festgestellt. Wie andere vorher, konnten auch die Verff. bestätigen, daß die physikalischen Verhältnisse des Bodens auf die Energie des Azotobacter einen deutlichen Einfluß ausüben. Mittelschwerer Boden zeigte die größte

Stickstoffzunahme, Sand die geringste. Reinkulturen von aus diesen Bodenarten, zu denen noch Lehm trat, isolierten Azotobacter-Stämmen zeigten dagegen keinerlei Unterschiede im Stickstoffsammlungsvermögen. Die Verff. konnten ferner die schon von anderen Seiten gemachte Beobachtung bestätigen, daß das Fehlen einer Phosphorsäuredüngung nachteilig auf die stickstoffsammelnden Kräfte eines Bodens wirkt. Im Durchschnitt aller Versuche wurden in den Kulturen beim Verbrauch von 1000 mg Mannit 6,56 mg Stickstoff festgelegt.

Densch, Ueber die Genauigkeit bei der Bestimmung verschiedener Stickstoffformen in Bodenauszügen[1]).

Verf. prüfte die Genauigkeit der bei der Bestimmung der verschiedenen Stickstoffformen gewöhnlich zur Anwendung kommenden Methoden. Er prüfte diese Methoden in reinen Lösungen unter Zugabe verschiedener organischer Verbindungen und in Erdauszügen. Es lag ihm daran, zu ergründen, ob organischer Stickstoff die Bestimmung anderer Stickstoffformen, besonders des Salpeters beeinflußt und ob andererseits etwa Salpeter die genaue Bestimmung des organischen Stickstoffs beeinträchtigen würde.

Die Bestimmung des Ammoniakstickstoffes durch Destillation mit Magnesia usta und die des Gesamtstickstoffes nach Kjeldahl fand der Verf. als unter allen Verhältnissen zuverlässig. Schwieriger liegen die Verhältnisse bei der Bestimmung des Salpeterstickstoffs. Aus allen Zusätzen zu den reinen Lösungen, mit Ausnahme der Asparaginsäure, wurden durch die Destillation mit Natronlauge erhebliche Mengen Stickstoff abgespalten, die das Resultat der Salpeterbestimmung zu hoch ausfallen ließen. Die Gegenwart von Nitriten begünstigt die Stickstoffabspaltung, auch wenn man das Nitrit vor der Analyse oxydiert. Auch im Boden liegen stets organische Verbindungen in Menge vor, aus denen die Natronlauge bei der Salpeterbestimmung Stickstoff abspalten wird (was schon Ehrenberg u. a. beobachteten. Ref.). Die Frage ist, ob diese Abspaltung in Bodenauszügen analytisch nachweisbar ist. Der Verf. bejaht sie auf Grund seiner Analysen. Merkwürdige Resultate erhält er aber in salzsaurem Moorboden bei Zusatz von Nitrit und Nitrat. Hier treten nämlich Verluste ein, die entstehen beim Zusammenbringen von Salpeter oder salpetriger Säure mit Schwefelsäure in dem salzsauren Bodenauszug. Derartige Bodenauszüge sind also zu Analysen unbrauchbar, dagegen empfiehlt sich schwaches Ansäuern mit Schwefelsäure. Die festgestellte Abspaltung von organischem Stickstoff aus Bodenauszügen läßt sich durch größere Verdünnung zwar vermindern, aber nicht aufheben. Sind nur Spuren von Nitrat vorhanden, empfiehlt sich eine nochmalige Destillation der Vorlage mit Magnesia usta. Eine ganz genaue direkte Salpeterbestimmung in Bodenauszügen ist also nicht möglich. Annähernd richtige Zahlen erhält man bei Anwesenheit nur geringer Salpetermengen durch Berechnung des Salpeterstickstoffs aus der Differenz zwischen Gesamtstickstoff und den anderen Stickstoffformen. Größere Fehler erhält man dagegen bei größeren Nitratmengen in Gegenwart von viel organischem Stickstoff, durch Stickstoffverluste, die aber mit abnehmendem Salpetergehalt abnehmen. Zeller (Bromberg).

---

1) Mitteil. a. d. Kaiser-Wilhelms-Institut für Landwirtschaft in Bromberg. Bd. I. 1908. Heft 2. p. 207.

Referate.

Möbius, M., Kryptogamen. Algen, Pilze, Flechten, Moose und Farnpflanzen. („Wissenschaft und Bildung". Einzeldarstellungen aus allen Gebieten des Wissens, herausgeg. v. Paul Herre. Bd. XLVII.) Leipzig (Quelle u. Meyer) 1908. 168 pp. m. zahlr. Abbild. Gebd. 1,25 M.

Uns interessiert hier nur das Kapitel Pilze. Nach geschichtlichem Rückblicke über die Entwickelung der Pilzforschung wendet sich Verf. insbesonders den verwandtschaftlichen Beziehungen der einzelnen Pilzgruppen zu, wobei selbst die neuesten Untersuchungen berücksichtigt werden. Den Bakterien widmet er nur wenige Seiten, da Miehe in der oben angegebenen Sammlung diese in einem eigenen Hefte bearbeitet hat. Bei den anderen Gruppen der Pilze berücksichtigt er diejenigen, welche schädigend auftreten, genauer und widmet besondere Kapitel den „Pilzkrankheiten der Pflanzen" und dem „Hausschwamm und verwandten Pilzen". Matouschek (Wien).

Lode, Alois, Experimente mit Leuchtbakterien (Berichte des naturw.-medizinischen Vereins in Innsbruck. Jahrg. XXXI. 1907/08. p. XXIII—XXIV.)

1) Bei nicht zu stark leuchtenden Vibrionen, von frischen Seefischen gezüchtet, wurde die Helligkeit mit 0,000000000785 Hefner-Kerzen = 0,000000000562 deutschen Normalparaffinkerzen pro Kubikmillimeter bestimmt.

2) Da zum Leuchten O nötig ist, leuchtet vom Gelatineimpfstrich nur die oberflächliche Ausbreitung; in langen Röhren leuchtet auch nur die Oberfläche.

3) Schüttelt man die Röhre mit Luft oder läßt man im Rohre Luftblasen aufsteigen, so tritt vorübergehend (bis der Sauerstoff verzehrt ist) prächtiges Leuchten ein. Wirft man poröse Körper (Platinschwamm, Bimsstein) in durch Luftmangel entleuchtete Röhren, so leuchten die Bakterien in der Umgebung dieser Sauerstoffträger durch längere Zeit. Im Wasserzersetzungsapparat leuchtet die Bakterienmasse nur an der positiven Elektrode.

4) Völlig rätselhaft ist die gefundene große Empfindlichkeit gegenüber den Sonnenstrahlen; selbst lichtausstrahlend erliegen sie ungleich leichter als die so lichtempfindlichen Typhusbakterien.

5) Sonderbarerweise vermögen manche Stoffwechselprodukte von Schimmelpilzen oder Bakterien den nicht mehr leuchtenden Kolonieen von Leuchtbakterien ihre Leuchtkraft wieder zu erteilen.

Matouschek (Wien).

Palladin, W., Die Atmungspigmente der Pflanzen. (Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. LV. 1908. p. 207.)

Veranlassung zu der vorliegenden Arbeit gab die Beobachtung, daß Weizenkeime, welche längere Zeit mit Wasser und Chloroform versetzt stehen blieben, verschiedenartig gefärbte Pigmente bildeten. Verf. nimmt an, daß bei diesem Vorgange ein proteolytisches Enzym zuerst die Eiweiß-

stoffe spaltete, worauf ein Spaltungsprodukt (Tyrosin) durch ein oxydierendes Enzym (Tyrosinase) unter Pigmentbildung oxydiert wurde.

Der gegenwärtig verbreiteten Ansicht, daß auch das Schwarzwerden der Pflanzensäfte auf einer Oxydation des Tyrosins beruhe, stimmt Verf. allerdings nur teilweise zu, indem er darauf hinweist, daß E. Schulze im Runkelrübensafte weder Tyrosin noch das Zwischenprodukt, die Homogentisinsäure, finden konnte.

Die Anschauungen über die physiologische Bedeutung derartiger Pigmente widersprechen sich noch vielfach. Es muß in Betracht gezogen werden, daß sich diese Pigmente in lebenden Pflanzen gewöhnlich nicht vorfinden, sondern erst zum Vorschein kommen, nachdem die Pflanzen z. B. durch Zerreiben oder Erfrieren, überhaupt ohne Zerstören der oxydierenden Enzyme getötet wurden. Nach Pfeffer handelt es sich dabei um postmortale Erscheinungen ohne größere physiologische Bedeutung, da man die lebende Zelle nicht nach den Reaktionen beurteilen dürfe, die mit dem Tode und in ausgepreßten Säften eintreten. Reinke schrieb diesen Pigmenten dagegen schon vor längerer Zeit ein große Bedeutung für den Atmungsprozeß zu (daher die Bezeichnung „Atmungspigment"). Verf. schließt sich — von einigen Modifikationen abgesehen — der Anschauung von Reinke an.

Die Versuche des Verf.s zeigen, daß dieses Pigment nur in Gegenwart von Oxydasen, also nicht unmittelbar durch molekularen Sauerstoff, oxydiert wird, daß außer dieser Oxydasen aber auch Reduktasen vorhanden sind, Enzyme, welche eine Entfärbung herbeiführen und also die Pigmente reduzieren. Während bei Bakterien und Hefen die Reduktasen schon bekannter waren, ist ihre Anwesenheit nun auch für die höheren Pflanzen bestimmt festgestellt. Verf. denkt sich die komplizierten Verhältnisse des Atmungsprozesses so, daß die Pigmentbildungen als reversible Reaktionen aufzufassen wären. Die Atmungspigmente sind seiner Ansicht nach in der lebenden Pflanze gewöhnlich als farblose Chromogene enthalten. Die Atmungsoxydasen, welche als pigmentbildende Enzyme aufzufassen sind, absorbieren molekularen Sauerstoff und übertragen denselben nun auf diese Chromogene. Damit wäre die Rolle der Atmungsoxydasen erschöpft. Der gebundene Sauerstoff wird aber auf andere Stoffe übertragen, da das Pigment durch Reduktasen sofort wieder reduziert wird. Infolgedessen findet in der lebenden Zelle eine Pigmentanhäufung nicht statt. Wenn mit dem Tode aber die Tätigkeit der Reduktasen gehemmt oder diejenige der Oxydasen verstärkt wird, so kommt eine Anhäufung des Pigments zustande.

Indigo, Aloin, Hämatoxylin und viele andere Farbstoffe, welche in der lebenden Pflanze als farblose Chromogene enthalten sind, können nach Ansicht des Verf.s nichts anderes als Atmungspigmente sein. Er schlägt vor, sämtliche Atmungspigmente ohne Rücksicht auf ihre chemische Struktur als Phytohämatine zu bezeichnen, um die Identität ihrer physiologischen Bedeutung mit derjenigen des Bluthämatins hervorzuheben.

Schneider-Orelli (Wädenswil).

Oes, Adolf, Ueber die Autolyse der Mitosen. (Botan. Ztg. Bd. LXVI. 1907. p. 89.)

Daß die aus einem Kohlehydrate bestehenden Pseudomitosen der blaugrünen Algen durch ein intracelluläres Enzym unter geeigneten

Umständen gelöst werden, beweist A. Fischer in seiner Arbeit „Die Zelle der Zyanophyceen“ 1905. Auf dessen Anregung unterzieht sich Verf. der Aufgabe, zu untersuchen, ob nicht auch ein die echten Mitosen der höheren Pflanzen angreifendes intracelluläres Enzym auffindbar sei. Verf. berichtet zuerst über die Methodik seiner Forschungen, die folgende Resultate ergeben:

1) Die wachstums- und teilungsfähigen Zellen enthalten ein chromatinlösendes Enzym (Nuclease), das bei Zusatz von Toluol, Chloroform, Karbolsäure, Kochsalz usw. die angefangenen Mitosen löst.

2) Die Nuclease greift am schnellsten die Meta-, Ana- und Telophasen, langsamer die Prophasen und sehr langsam die ruhenden Kerne an.

3) In autolysierten Objekten bleiben Kernmembran und Nucleolus des ruhenden Kernes enthalten; Spindelfasern sind nicht mehr zu erkennen.

4) Hitzegrade von 30—40° C fördern die Autolyse, solche von 80—90° heben sie völlig auf. Hemmend auf die Autolyse wirken $MgSO_4$, $CaSO_4$, $Al_2(SO_4)_3$), während geringe Mengen verschiedener Neutralsalze ($NaCl$, $NaNO_3$, KNO_3) diese begünstigen.

5) Das Enzym Nuclease ist sehr empfindlich gegen freie Säure, erträgt ohne Nachteil schwach alkalische Reaktion.

6) Die Nucleine werden nicht nur gelöst, sondern auch tief gespalten.

7) Nach der Fixierung durch Alkohol wird das Chromatin noch enzymatisch gelöst.

8) Die von Strasburger und anderen Autoren beobachtete Annahme der chromatischen Substanz in den Telophasen ist wahrscheinlich der Tätigkeit des Enzyms zuzuschreiben.

9) Die erblichen Eigenschaften werden nicht ausschließlich durch das Chromatin übertragen. E. Winkelmann (Halle a. S.).

Pantanelli, E., Ueber Pilzrevertase. (Ber. d. Dtsch. Bot. Gesellsch. Bd. XXVI. 1908. p. 494.).

Verf. wendet sich, ohne wesentliche neue Daten zu bringen, gegen die Einwände, welche Kohl neuerdings (Beihefte z. Botan. Centralbl. Abt. I. Bd. XXIII. p. 64) gegen des Verf. Arbeiten und Anschauungen über Pilzrevertase geäußert hat. Verf. widerlegt Kohls Einwände; die Resultate Kohls bestätigen die früher vom Verf. gewonnenen. Daß die Reaktionen bei Pantanellis Untersuchungen kräftiger ausfielen, als bei Kohls Arbeit, führt Verf. darauf zurück, daß letzterer mit gereinigten Enzympräparaten arbeitete, welche mehr oder minder geschwächt sind gegenüber dem Enzym im natürlichen Standort. Kohls Forderung nach einer neutralen Lösung ist theoretisch überflüssig und praktisch unerfüllbar. E. Winkelmann (Halle a. S.).

Ostwald, Wolfgang, Ueber die Lichtempfindlichkeit tierischer Oxydasen und über die Beziehungen dieser Eigenschaft zu den Erscheinungen des tierischen Phototropismus. (Biochem. Zeitschr. 1908. 5. Mai.)

Durch physikalisch-chemische Prozesse infolge Absorption strahlender Energie werden im Organismus phototropische Reaktionen hervorgerufen, deren Grundlagen noch nicht erkannt sind.

Verf. vermutet einen Zusammenhang mit den oxydativen Vorgängen.

Er versuchte „einen etwaigen Zusammenhang der Atmungs- oder allgemeinen Oxydationsvorgänge im tierischen Organismus mit den phototropischen Eigenschaften der letzteren dadurch zu untersuchen, daß er die Einwirkungen des Lichtes auf die Fermente oder Stoffe, welche bei Oxydationsvorgängen im Tierkörper sicher oder mit großer Wahrscheinlichkeit eine wichtige Rolle spielen, an Extrakten dieser Fermente aus den Geweben und Körperflüssigkeiten derselben studierte".

Tierische Katalasen: Verf. hat bisher noch keinen wässerigen Extrakt aus einem tierischen Gewebe usw. gefunden, welcher nicht bis zu einem gewissen Grade die Fähigkeit der Wasserstoffsuperoxydzersetzung gehabt hätte. Es handelt sich also um ein Ferment von allgemeinster Verbreitung, wie schon O. Loew, der Entdecker des Fermentes, hervorgehoben hat. Aus den Versuchen ergab sich, daß die Katalasenextrakte sowohl von Tieren, welche durch Chloroform kurz vor der Herstellung der Fermentlösungen getötet wurden, als auch von getrockneten und möglichst lichtdicht aufbewahrten Tieren, gegen Belichtung empfindlich sind und durch dieselbe zerstört werden. Die Extrakte aus frischen Tieren sind lichtempfindlicher als Extrakte von getrocknetem Material. Es ist übrigens zu beachten, daß auch während der H_2O_2-Zersetzung selbst eine zerstörende Wirkung des Lichtes sich bemerkbar macht, und zwar um so stärker, je geringer die Konzentration des Wasserstoffsuperoxyds ist. Die Versuche wurden hauptsächlich mit Extrakten aus Porthesia-Räupchen gemacht.

Versuche über den Einfluß der Belichtung auf den Katalasegehalt lebender Tiere ergaben, daß junge Porthesia-Räupchen kurz nach dem Ausschlüpfen aus den Nestern in der Sonne merklich (ca. 23 Proz.) an Katalase verlieren. Im Dunkeln findet sowohl bei einer Temperatur von 8—10° als auch von 15—19° anfänglich eine Vermehrung der Katalase statt, welche aber bei längerer Versuchsdauer regelmäßig in eine Abnahme der Katalase übergeht. Die anfängliche Vermehrung ist jedenfalls auf eine Steigerung der physiologischen Funktionen infolge der höheren Versuchstemperatur zurückzuführen (Ueberwinterungstemperatur nicht über 6°).

Der Einfluß der Wellenlänge auf den Katalasengehalt lebender Porthesia-Räupchen ist ein sehr verwickelter und möge in dem Original nachgesehen werden.

Die Extrakte aus „Dunkelraupen" waren weniger gelblich als die der „Hellraupen"; sie sind um so gelblicher, je weniger Katalase sie enthalten.

Lichtempfindlichkeit tierischer Peroxydasen: Darüber sei hervorgehoben, daß in derselben regelmäßigen Weise, in welcher bei Belichtung der Katalasengehalt lebender Porthesia-Räupchen zerstört wird, der Peroxydasengehalt sich vermehrt. „Was die Beziehungen zwischen der Sterblichkeit der hungernden belichteten Räupchen und dem Einfluß des Lichtes auf den Peroxydasengehalt des Lichtes anbetrifft, so ergaben sämtliche Versuche, daß im gemischten Licht, in welchem die Räupchen am längsten leben, stets der höchste Peroxydasengehalt festgestellt werden konnte. Auf der anderen Seite entsprach der im Gelb beobachteten größten Sterblichkeit in der Mehrzahl der Fälle auch der kleinste Peroxydasengehalt."

Ueber die Rolle oxydativer Fermente bei den phototropischen Reaktionen der Tiere sagt Verf., daß intensiv negativ

phototropische Tiere (Mehlwürmer z. B.) starken Peroxydasengehalt besitzen, während die stark positiv phototropischen Porthesia-Räupchen immer schwache Peroxydasenreaktion (mit Guajaktinktur) geben und zugleich hohen Katalasengehalt aufweisen. Umgekehrt haben negativ phototropische Tiere einen hohen Peroxydasengehalt und einen im Verhältnis hierzu kleinen Katalasengehalt.

Weiterhin hat sich bei den Versuchen mit Porthesia-Räupchen sowie auch bei Experimenten mit Mehlwürmern ergeben, daß die positiv phototropische Reaktion der Porthesia-Räupchen sowie die negativ phototropische Reaktion der Mehlwürmer eine lebenserhaltende ist, indem die negativ phototropisch hungernden Räupchen länger im Hellen als im Dunkeln, die hungernden Mehlwürmer länger im Dunkeln als im Hellen bei sonst vollkommen gleichen Versuchsbedingungen am Leben bleiben. Durch intensivere Beleuchtung der Extrakte, insbesondere der lebenden Tiere, findet gleichzeitig eine Verminderung des Katalasengehaltes und eine Vermehrung des Peroxydasengehaltes statt. Vermutlich hängt dieses mit der Gewebeatmung zusammen, zeigen doch unter anderem die Untersuchungen von Luciani und Lo Monaco, daß die energisch positiv phototropischen jungen Räupchen des Seidenspinners bei Tage, d. h. im Lichte, bedeutend mehr Kohlensäure abscheiden wie im Dunkeln. „Die gefundenen Tatsachen unterstützen durchaus die Annahme, daß die phototropischen Reaktionen der Tiere im engsten Zusammenhang mit den Vorgängen der allgemeinen Gewebeatmung stehen.“ Weitere Versuche stellt Verf. in Aussicht. Th. Bokorny (München).

Pekelharing, C. A., Ein paar Bemerkungen über das Fibrinferment. (Biochem. Zeitschr. 1908. Juli.)

Das verwickelte Problem der Gerinnung des Blutes ist noch keineswegs zur wünschenswerten Klarheit gebracht. Die zahlreichen neuen Namen für Stoffe, welche die Gerinnung verursachen, fördern, hemmen sollen, aber tatsächlich nicht nachgewiesen werden können, haben nur Verwirrung gestiftet; in gewissen Fällen sind ohne Not neue Stoffe postuliert worden.

Bei Gerinnungsversuchen müssen die in Betracht kommenden Faktoren soviel wie möglich gesondert betrachtet werden, es muß gereinigtes Fibrinogen und gereinigtes Fibrinferment gebraucht werden. P. gelangte bei solchen Arbeiten zu dem Schluß, daß der von Alexander Schmidt erst Fibrinferment, später Thrombin genannte Stoff aus der Einwirkung von Kalksalzen auf Nucleoproteide hervorgeht und daß in dieser Weise auch der von Wooldridge hervorgehobenen Einfluß von Gewebsextrakten auf die Gerinnung des Blutes erklärt werden kann.

Das Unwirksamwerden des Blutserums gegen Fibrinogen beim Stehen an der Luft glaubt Verf. auf Grund einiger neuer Beobachtungen dahin erklären zu können, daß das Serum kein Zymogen enthält, sondern nur eine einzige Art von Fibrinferment, dessen Wirkung von beim Stehen des Serums an Luft in immer größerer Menge auftretenden Stoffen gehindert wird; letztere werden durch Einwirkung von Alkali oder Säuren unwirksam gemacht. Die Isolierung der gerinnungshindernden Stoffe mißlang bis jetzt.

Pekelharing glaubt aus seinen Versuchen folgern zu können, „daß die Annahme, wonach Blutserum neben dem Fibrinferment noch irgend ein Proferment enthält, nicht begründet ist. Die Möglichkeit, Blutserum

mittels Alkali zu „aktivieren", kann durch die Entfernung von Stoffen, welche die Gerinnung hindern, erklärt werden, während der schädliche Einfluß von Alkali und von längerem Aufbewahren bei neutraler Reaktion auf das Fibrinferment die Erklärung gibt, warum das „Aktivieren" nicht beliebig oft wiederholt werden kann".

Eine zweite Bemerkung des Verf.s betrifft jene Bestandteile von Gewebsextrakten, welche, mit Kalksalzen in Berührung gekommen, imstande sind, Fibrinogen gerinnen zu machen, nämlich die Koaguline von Loeb.

Es stellte sich bei den Versuchen Pekelharings immer wieder heraus, daß ohne Kalk weder die Gewebsextrakte noch die daraus bereiteten Nukleoproteide Gerinnung von Fibrinogen zu verursachen imstande sind.

„Wenn also irgend ein Gewebsextrakt zwar Blutplasma, aber nicht eine gereinigte Fibrinogenlösung gerinnen macht, darf man daraus noch nicht die Existenz von Stoffen, wie Thrombokinase und Thrombogen folgern. Soweit man jetzt weiß, werden von allen Zellen des Tierkörpers an Wasser Nukleoproteide abgegeben, welche mit Kalk zusammengebracht als Fibrinferment wirken können. Man hat keinen Grund, daran zu zweifeln, wenn bei Vermischung so komplizierter Flüssigkeiten wie Gewebsextrakte und Blutplasma bisweilen Wirkungen zur Beobachtung kommen, welche den Befunden bei Vermischung von Gewebsextrakt mit gereinigter Fibrinogenlösung nicht völlig entsprechen."

Th. Bokorny (München).

Brasch, W. und Neuberg, C., Biochemische Umwandlung der Glutaminsäure in n-Buttersäure. (Biochem. Zeitschr. Bd. XIII. p. 299.)

Bei der Fäulnis geht Glutaminsäure zu einem großen Teile in n-Buttersäure über, d. h. es findet Abspaltung der einen Karboxyl- und der Aminogruppe statt. Geutarsäure scheint intermediär nicht zu entstehen, da sie weder in Fäulnisgemisch nachgewiesen werden konnte, noch selbst bei der Fäulnis Buttersäure bildet.

Kurt Meyer (Stettin).

Hansen, Emil Chr., Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques. XIII. Nouvelles études sur des levures de brasserie à fermentation basse. (Comptes-rendus des travaux du Laboratoire de Carlsberg. T. VII. Livr. 3. 1908. p. 179—217.)

Der Ausgangspunkt dieser neuen Untersuchungen Hansens liegt so weit in der Zeit zurück, wie im Anfange des Jahres 1882, da er in „Compt.-rend. des trav. du Laborat. de Carlsberg" eine Mitteilung über einige von neuen Gesichtspunkten aus angestellte Untersuchungen über Saccharomyces-Arten, unter denen auch einige Brauerei-Unterhefearten, gab. Er hatte damals seine Reinzuchtmethoden ausgearbeitet und seine Experimente waren mit sicheren Reinkulturen, deren Ausgangspunkt eine einzige Zelle war, angestellt. Durch diese Versuche und noch mehr durch diejenigen Versuche, welche er mit den von ihm im Jahre 1883 und später eingeführten Arten anstellte, wurde die Auffassung der Hefenarten und ihres Verhaltens während der Gärung eine andere

Unter den von Hansen in Reinkulturen dargestellten Brauerei-Unterhefenarten war eine Art, welche er aus der unreinen Hefe der Brauerei „Gamle Carlsberg“ ausgeschieden hatte. Mit dieser Art führte er im Jahre 1883 das Reinzuchtsystem in die Praxis ein. Sie bekam später den Namen Carlsberg-Unterhefe No. 1, wurde aber übrigens mit den Namen Rasse 1, Carlsberg Saccharomyces cerevisiae No. 1 etc. belegt. Außer dieser Hefe stellte Verf. auch Versuche in der Praxis mit einer anderen Art an, welche als No. 2 bezeichnet wurde. Er gab teils sofort, teils später eine kurzgefaßte Beschreibung dieser zwei Arten.

Wenn Verf. jetzt nach dem Verlaufe so langer Zeit diese 2 Arten zu einer erneuten Untersuchung aufgenommen hat, so ist die Ursache, wie er selbst sagt, um eine alte Schuld zu bezahlen. Seine alten Beschreibungen waren so kurz gefaßt, daß sie in einigen Punkten Veranlassung zu groben Mißverständnissen in der Literatur gegeben haben. Ferner forderten diejenigen Studien über die Systematik der Saccharomyceten, mit deren Veröffentlichung er angefangen hat, eine tiefergehende Untersuchung über Brauerei-Unterhefenarten, als bisher vorlag.

Seinen früheren Artcharakteren hat Verf. jetzt neue angereiht, so daß diejenigen Charaktere, welche sich in der vorliegenden Abhandlung finden, die folgenden sind: Die Gestalt der Zellen in den jungen Vegetationen, welche in Bierwürze nach 24 Stunden bei 25 ° C oder nach ein paar Tagen bei gewöhnlicher Zimmertemperatur gezüchtet sind, die Temperaturgrenzen der Sprossung, die Zellgestalt und Kolonieenbildung in der Nähe des Temperaturmaximums und des Temperaturminimums, die Hautbildung, die Sporenbildung, das Aussehen der Vegetationen auf Nährgelatine, das Verhalten der Zellen zu den Zuckerarten und der Gärung in den Brauereien. Die Beschreibungen des Verf. sind, wie in seinen anderen Arbeiten, auf experimentelle, morphologische und physiologische Untersuchungen basiert. Rücksichtlich der Einzelheiten muß auf die Originalarbeit verwiesen werden.

Carlsberg Unterhefe No. 1 war, wie oben erwähnt, die erste Hefenart, mit welcher er das Reinzuchtsystem in die Praxis einführte, und da dies in den Carlsberg-Brauereien stattfand, gibt er der Art den neuen systematischen Namen Saccharomyces Carlsbergensis. Carlsberg Unterhefe No. 2 rührt von einer Hefe her, die in mehreren Brauereien in München verwendet wurde; er nennt sie deshalb Saccharomyces Monacensis.

Die Unterschiede zwischen den 2 Arten sind in vielen Fällen nur kleine und mehr graduelle als absolute, bisweilen aber doch auch stark hervortretende, häufig sowohl die eine als die andere Kategorie von Charakteren. Der am meisten auffällige Charakter zwischen den zwei Arten erscheint bei den niedrigen Temperaturen; bei Sacch. Carlsbergensis sind hier myceliale, große, zusammengesetzte, sparrige, aus mehr oder minder langgestreckten Zellen bestehende Kolonieen vorherrschend, bei Sacch. Monacensis Kolonieen aus ellipsoidischen und kugelförmigen Zellen. In der Nähe des Temperaturmaximums ist dagegen die ellipsoidische Gestalt bei den beiden Arten vorherrschend. Daß diese Charaktere von großer Konstanz sind, ist nicht nur daraus ersichtlich, daß sie in allen geprüften verschiedenen Nährflüssigkeiten zum Vorschein kommen, sondern auch, wenn man auf eine besondere Weise in das Leben der

Aussaatsvegetation Eingriffe gemacht und letztere unter ganz abnormen Verhältnissen gezüchtet hat, welche ganz verschieden von denjenigen Verhältnissen sind, unter welchen die normale Vegetation gezüchtet wurde. Die Zellen nehmen ferner in einer auffälligen Weise in der Nähe der Temperaturgrenzen an Größe zu; in betreff der ellipsoidischen Zelle gilt dies namentlich von den Kulturen in der Nähe des Temperaturmaximums.

Während also bei Sacch. Carlsbergensis unter den angeführten Züchtungsverhältnissen die mycelialen Kolonieen bei den niedrigen, aber nicht bei den hohen Temperaturen hervortreten, findet man andere Saccharomyces-Arten, bei welchen gerade das Umgekehrte stattfindet, und es gibt gewiß auch Arten, welche weder bei hoher noch niedriger Temperatur auf diese Weise reagieren. Verf. hat hier neue und gewichtige Beiträge zu seinen früheren Untersuchungen über die Temperatur als gestaltgebenden Faktor gegeben. (Hierzu gehören auch seine Untersuchungen über Essigsäurebakterien in „Compt. rend. des trav. du Labor. de Carlsberg", 1894.)

Riesenzellen traten bei den beiden Arten namentlich bei niedrigen Temperaturen und besonders durch Züchtung in Dextrose-Hefewasser hervor, in größter Anzahl und mit den größten Dimensionen bei Sacch. Monacensis. Diese starke Entwickelung in Dextrose-Hefewasser von solchen runden Riesenzellen von einer ungeheuren Größe ist für Sacch. Monacensis ein wertvoller Charakter.

Von anderen Unterschieden zwischen den zwei Arten ist ferner der Gestaltunterschied zu nennen, welchen die Zellen der normalen Aussaaten besitzen. Ferner sind in dem Gärkeller und in dem Lagerkeller nicht nur die Attenuation, sondern zugleich der Geschmack und der Geruch der Biere der zwei Arten verschieden.

Aus dieser ganzen Reihe Differenzen ist ersichtlich, wenn sie insgesamt genommen werden, daß die zwei Arten sich in einer auffälligen Weise voneinander unterscheiden.

In betreff der Bildung von Riesenkolonieen auf Würzegelatine gehören die beiden Arten dem von P. Lindner beschriebenen Frohberg-Typus an.

Verf. teilt danach eine Uebersicht über seine Untersuchungen von den Brauerei-Unterhefenarten rücksichtlich der Variation und Erblichkeit mit, welche bis zum Jahre 1883 zurückgehen. Es handelt sich hier um Gestaltänderungen, Alkoholgärungsfähigkeit, Darstellung von Varietäten, welche in der Brauerei auf eine bessere Weise als ihr Ausgangspunkt arbeiten, und um Asporogenität. Letztere zeigen, wie man unter der Einwirkung gewisser äußerer Faktoren auf die Saccharomyces-Zellen eine sporenlose Form darstellen kann, welche der stattgefundenen Behandlung wegen neue Eigenschaften in mehreren Richtungen hin erworben hat, und zwar Eigenschaften, welche in endlosen Generationen fest vererblich sind.

Die in der vorliegenden Abhandlung mitgeteilten Untersuchungen über Sacch. Carlsbergensis und Sacch. Monacensis sind besonders mit deren zwei Hauptformen angestellt, und zwar mit der ellipsoidischen Zellgestallt und der Unterhefeform. Sie treten aber beide nicht nur mit einer Varietät mit wurstförmigen Zellen auf, sondern auch mit einer Varietät mit Obergärung. In seinen experimentellen Untersuchungen über die Variations- und Erblichkeitsverhältnisse bei den

Ober- und den Unterhefeformen (diese Zeitschrift. Bd. XV. 1905. p. 353 und Bd. XVIII. 1907. p. 577) hat Verf. dargetan, daß die zwei physiologischen Formen, Ober- und Unterhefe, nicht selbständig sind, sondern daß die eine sich aus der anderen zu entwickeln vermag, und daß eine einzige Zelle den Grund für Vegetationen mit beiden Formen legen kann. Bei den typischen Oberhefenarten war es nur bei einer äußerst geringen Anzahl, daß die Bewegung von Oberhefeform zu Unterhefeform stattfand; bei den Zellen der Unterhefenarten war dagegen die umgekehrte Bewegung häufig. Einige der Untersuchungen des Verfs. in der genannten Richtung hin wurden mit den zwei eben hier beschriebenen Brauerei-Unterhefearten angestellt. Letztere zeigten beide eine überwiegende Neigung zur Bildung typischer Unterhefezellen; doch hatten einige ihrer Zellen sich auf eine kennbare Weise von der Untergärungsbahn entfernt, und einige dieser Zellen bildeten sogar eine Vegatation mit deutlicher, obwohl nicht starker Obergärung. Diese Variation reiht Verf. am nächsten derjenigen an, welche von H. de Vries Mutation genannt wird, beide haben mehrere Charaktere gemeinsam, so auch diesen, daß die dabei wirksamen Faktoren unbekannt sind. Andererseits spricht auch viel dafür, sie zu den fluktuierenden Variationen zu zählen.

Verf. hat also in der vorliegenden Abhandlung teils die Brauerei-Unterhefenarten von dem Gesichtspunkte aus untersucht, daß sie im Besitze so fester Charaktere sind, daß man durch deren Hilfe die eine Art von der anderen unterscheiden kann, teils von dem Gesichtspunkte aus, daß die Variation hier wie anderswo in der Organismenwelt große Schwankungen gibt.

In den verschiedenen gärungstechnischen Laboratorien sind nach der Einführung des Reinzuchtsystems zahlreiche Brauerei-Unterhefenarten zum Gebrauch in der großen Praxis isoliert worden; die Mehrzahl ist nur rücksichtlich ihres Verhaltens in der Brauerei untersucht worden, also nur in rein praktischer Beziehung, und in den wenigsten Fällen wurden die Resultate veröffentlicht. Ueber die Literatur auf diesem Gebiete gibt Verf. zum Schlusse eine Uebersicht, und zwar mit Hinweisungen auf die Arbeiten der folgenden Verfasser: Delbrück; Irmisch, Jörgensen, van Laer und Denamur, Lindner, Reinke, Schönfeld u. Rommel und Will.

Die Abhandlung ist von 10 Abbildungen begleitet.

Klöcker (Kopenhagen).

Mayer, A., Das Wesen der Gärung und der Fermentwirkung. (Naturwissenschaftliche Zeitfragen. Buch 5.) 38 pp. mit 1 Taf. Hamburg (G. Schloessmann) 1908.

Das Büchlein ist populär gehalten, aber recht interessant sind die Abschnitte über das Nährstoffbedürfnis der niederen pflanzlichen Organismen und über die Möglichkeit des Ueberganges von der aëroben zur anaëroben Lebensweise. Es müssen alle Gärungssubstrate sauerstoffhaltig sein und alle Gärungsreaktionen exotherm. Nur dann ist Gelegenheit zu innerer Atmung durch intramolekulare Verschiebung des Sauerstoffes und zur Erzeugung von Energie gegeben. Ueberall bemerkt man die Bekämpfung des atheistischen und materialistischen Monismus des Haeckel. In der historischen Darlegung der Gärungserscheinungen wird des Gründers der ersten Hypothese, Stahl, gedacht. Letzterer nahm an, daß die innere Bewegung eines in Fäulnis begriffenen Körpers

auf einen noch von der Fäulnis befreiten übertragen wird. Nachdem Gay-Lussac den Sauerstoff als den eigentlichen Gärungserreger hingestellt hat, wies später Schwann nach, daß geglühte Luft unmöglich die Gärung hervorbringen kann; die Erreger müssen in der Luft befindliche Organismen sein, die dann wirklich von Pasteur gefunden wurden. Weiter ausholend weist Verf. die hydrolysierenden Enzyme in das Reich des Unorganischen und schließt sich da an Bredig an.

Matouschek (Wien).

Schiönning, H., On Torula in English beer manufacture. (Compt. rend. des travaux des Laboratoire de Carlsberg. T. VII. 1908. Livr. 3.)

Nachdem Hansen vor 25 Jahren sein Hefe-Reinzuchtsystem bei der Fabrikation untergäriger Biere eingeführt hatte, verstand man bald dessen große allgemeine Bedeutung für einen durchgeführten rationellen Betrieb auch in den anderen Zweigen der Gärungsindustrie zu schätzen. Unter diesen waren es die Obergärungsbrauereien, in welchen seine praktische Anwendung schon ein Paar Jahre später geprüft wurde, und hier hat sich besonders Alfr. Jörgensen Verdienste erworben. Nachdem letzterer dargetan hatte, daß das Reinzuchtsystem auch hier mit Vorteil benutzt werden konnte, verbreitete sich die Anwendung reingezüchteter Hefe (Reinkultur einer einzigen ausgewählten Art) nach und nach in die Obergärungsbrauereien des Festlandes. Auf den britischen Inseln konnte das System dagegen bisher keinen festen Fuß fassen, indem die Gärung der typischen englischen Lagerbiersorten, Stout und Ale, welche sich durch ein besonderes charakteristisches Aroma und Geschmak auszeichnen, nicht mittels einer Saccharomyces-Art durchgeführt werden kann. In betreff dieser Biersorten zeigte Claussen im Jahre 1904 (N. Hjelte Claussen, On a method for the application of Hansen's pure yeast system in the manufacturing of well-conditioned English stock beers. Journ. of the fed. Inst. of Brew. Vol. X. 1904. p. 308 und Wochenschr. f. Brauer. Bd. XXI. 1904. p. 370; Referat im Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. p. 538), daß die für diese charakteristischen Geruchs- und Geschmacksstoffe von der Anwesenheit und der Wirksamkeit gewisser Torula-Formen bedingt sind, welche er mit dem Namen Brettanomyces bezeichnet. Er gibt auch eine Methode zur Darstellung solcher typischen englischen Biere an, indem er zu diesem Behufe die Würze zuerst mit einer ausgewählten, reingezüchteten Saccharomyces-Art vergärt, und nach Beendigung der Hauptgärung eine andere ausgewählte, reingezüchtete Art der genannten Torula-Gruppe zugibt, welche dann diejenige Nachgärung erzeugt, während welcher die charakteristischen Geruchs- und Geschmacksstoffe gebildet werden.

Da diese Organismen sich in reichlicher Menge in allen typischen englischen Lagerbieren finden, sind keine besonderen Methoden erforderlich, um sie zu isolieren. Dies ist aber nicht der Fall rücksichtlich anderer Biersorten. In den Brauereien des Festlandes können sie nämlich, wie Verf. zeigt, auch auftreten; sie finden aber hier keine Bedingungen für ihre Entwickelung, und dies, in Verbindung mit der allgemeinen Verwendung des Reinzuchtsystems, ist die Ursache, daß sie nur spärlich gefunden und nicht bemerkt werden; sie können keine Wirksamkeit entfalten und sind hier ohne Bedeutung. Falls sie überhaupt im Biere

zugegen sind, erscheinen sie erst nach langem Stehenlassen desselben. und am besten bei hoher Temperatur, z. B. 25 ° oder 32 ° C. Leichter bekommt man sie, wenn das Bier in einer zugekorkten Flasche 1 Monat bei 20—25 ° gestellt wird; dann wird ein wenig des gebildeten Bodensatzes in pasteurisiertes Bier in einen Kolben mit Luftzutritt übergeführt. Ist diese letztere Kultur bei 32 ° ca. 20 Tage alt, so wird man dann in einer Plattenkultur des gebildeten Hefebodensatzes beinahe nur oder ausschließlich Kolonieen der betreffenden Formen erhalten.

Die genannte Gruppe der englischen Bier-Torula-Formen unterscheidet sich von den früher beschriebenen Torula-Arten dadurch, daß sie, wenn sie in mit einer Saccharomyces-Art vergorenes Bier ausgesät werden, die Gärung weiterführen; sie sind nämlich dazu imstande, unter diesen Umständen sich zu vermehren und den Zuckerrest im Biere zu vergären. Gleichzeitig mit der Zunahme der Alkohol- und Kohlensäuremenge werden Säuren gebildet, welche mit dem Alkohol Esterarten erzeugen, welche dem Biere den charakteristischen englischen Geschmack und Aroma verleihen.

Die genannten Torula-Arten vergären Saccharose, Glukose, Fruktose und, im Gegensatz zu der Mehrzahl der bisher bekannten Torula-Arten, auch Maltose. Sie sind starke Alkoholproduzenten; z. B. wird in Würze von 13,8 Proz. Ball. mit 10 Proz. Saccharose beinahe 10 Gew.-Proz. Alkohol gebildet. Die Vergärung geht aber langsam vor sich; in dem genannten Falle dauerte es ca. 8 Monate bei 20 ° C, ehe die Gärung beendet war. Ferner zeichnen diese Torula-Formen sich dadurch aus, daß sie Saccharose-Hefewasser vergären, ohne daß eine Reduktion von Fehlings Lösung stattfindet, obwohl eine Invertierung vor sich geht, indem der invertierte Zucker sofort vergoren wird.

Diese Torulae können in zwei Gruppen geteilt werden, deren einzelne Formen sich eng den zwei Arten anschließen, welche Verf. als typische Repräsentanten dieser zwei Gruppen unter den Namen Torula A und Torula B näher beschreibt.

Diese zwei Arten vermehren sich leicht in Würze und Bier (d. h. Würze, welche im voraus mit einem Saccharomyces vergoren ist), obwohl die Vermehrung eine ziemlich langsame ist. Die Hauptmasse der Zellen von Torula A ist ellipsoid, während sie bei Torula B wurstförmig ist, sonst aber ist die Zellgestallt sehr verschieden. Charakteristisch sind, besonders in alten Kulturen, die langen mycelähnlichen Fadenformen.

Aehnliche Hefenring- und Hautbildungen wie bei den Saccharomyceten treten in alten Kulturen auf. Ausnahmsweise konnte in einigen Kulturen von Torula A im Kolben mit Luftzutritt eine Kahmhaut auftreten.

Die Vegetationsbilder auf Würzegelatine sind nur wenig verschieden in betreff der zwei Arten und nicht besonders charakteristisch.

Verf. stellte auch Versuche über die Lebensgrenze unter verschiedenen Verhältnissen an. Die zwei Arten scheinen sehr empfindlich gegen Eintrocknung zu sein.

Ein Hauptunterschied zwischen Torula A und Torula B ist dieser: Torula B vermag Laktose zu vergären, wozu Torula A nicht imstande ist. Ferner sind die Maximum- und Minimumtemperaturen der vegetativen Vermehrung in betreff der Torula B etwas niedriger, und zwar 39—39½ ° und 3—4 °, als für Torula A, für welche diese Temperaturen 40—40½ ° und 5—7 ° sind.

Aus den vom Verf. angestellten Konkurrenzversuchen zwischen einer Brauereihefe und einer dieser englischen Torula-Arten ging hervor, daß die Verhältnisse während eines Konkurrenzkampfes sehr verwickelt sind, und daß man, falls eine Vergärung mittels einer Saccharomyces-Art und einer dieser Torula-Arten benutzt werden soll, nur die Gärung zu beherrschen vermag, wenn die Torula dann erst zugegeben wird, nachdem der Saccharomyces die Hauptgärung der Würze beendigt hat.

Aus der Arbeit des Verf. lassen sich die folgenden Schlußfolgerungen in betreff des englischen Stouts im allgemeinen ziehen: Wie verschieden auch die englischen Stoutsorten in den verschiedenen Gegenden Britanniens sein mögen, besitzen sie alle doch einen gemeinsamen Charakter in betreff des Geschmackes und Geruches des Bieres, welcher dieser Biersorte ihr typisches Gepräge verleiht.

In den Carlsberg-Brauereien und anderen dänischen Brauereien wird ein sogenannter Stout durch Hilfe von Unterhefe und mittels Lagerung bei niedriger Temperatur dargestellt. Das so hergestellte Bier hat zwar einige Aehnlichkeit mit Stout, ist aber selbstverständlich in Wirklichkeit verschieden von dem typischen englischen Stout. Das Verfahren der Carlsberg-Brauereien zur Darstellung von Stout hat auch als Muster für die Brauereien anderswo gedient, so z. B. in Südafrika. Auch hat man in einigen Brauereien Bier durch Hilfe einer Oberhefe hergestellt, welches einige Aehnlichkeit mit Stout hat.

Falls man beabsichtigt, das Reinzuchtsystem in den englischen Brauereien bei Herstellung von gelagerten Biersorten einzuführen, ist nur ein Verfahren möglich, wenn man wünscht, den für die englischen Lagerbiere typischen, besonderen Charakter beizubehalten, und zwar dieses: Eine Reinkultur einer ausgewählten Saccharomyces-Art für die Hauptgärung für sich, und danach eine ausgewählte Torula-Art für die Vergärung des von dem Saccharomyces vorbereiteten Bieres anzuwenden, um eine fortgesetzte Vergärung zu bewerkstelligen und das spezifische englische Aroma und Geschmack hervorzurufen. Daß eine solche zusammengesetzte Gärung besonders unter biologischer Kontrolle stehen muß, ist einleuchtend, damit man immer in der Brauerei sicher ist, daß die Torula-Art sich nicht mehr als wünschenswert in den Leitungen, Gefäßen usw. verbreitet. Auch muß man sich erinnern, daß alles schwieriger wird, wenn man mit mehr als einer Hefeart arbeitet.

Auch könnte man sich denken, das Reinzuchtsystem in seiner einfachsten Gestalt einzuführen, und zwar eine einzige ausgewählte Saccharomyces-Art für die ganze Gärung zu verwenden. Der Charakter des Bieres wird dadurch ein anderer, als in dem vorhergehenden Falle werden. Man kann sich dabei erinnern, daß eine solche Aenderung auch damals stattfand, wo das Reinzuchtsystem bei der Herstellung untergäriger Lagerbiersorten eingeführt wurde.

Schiönning (Kopenhagen).

Rosenstiehl, A., Du rôle des levures et des cépages dans la formation du bouquet des vins. (Comptes rendus hebdom. des séances. T. CXLVI. 1908. p. 1224—1226.)

Zahlreiche, namentlich in Burgund, Elsaß und an der Mosel 3 Jahre hindurch unternommene Versuche führen zu folgenden Resultaten:

1) Die Substanz des Buketts wird von der Rebe geliefert; sie enthält einen „anthophoren“ Stoff, der noch nicht isoliert wurde und wohl sicher für jede besondere Rebenart verschieden ist.

2) Die Trauben enthalten diesen Stoff immer, aber nur in gewissen (bevorzugten) Lagen entwickelt sich diejenige Hefe, welche auf diesen Stoff einzuwirken vermag.

3) Die Experimente erhärten diese beiden Resultate. Denn sterilisiert man den Most von Trauben, die gewöhnlich bukettlose Weine liefern, und versetzt man ihn mit ausgewählter Hefe, so erhält man Wein mit besonders gutem Bukett. Doch überträgt die Hefe auf den Wein nicht das Bukett des Weines, von dem sie herstammt, aber in einem gegebenen Traubensaft entwickelt sie das diesem eigentümliche Bukett.

4) Die anthophore Substanz ist wahrscheinlich ein Glukosid; gespalten wird es durch ein Enzym unter Bildung eines wohlriechenden Stoffes. Die anthogene Hefe scheidet also nicht bloß die Buchnersche Zymase ab, sondern auch ein anderes auf die anthophore Substanz wirkendes Enzym. Matouschek (Wien).

Pringsheim, Hans, Ueber die Unterdrückung der Fuselölbildung und die Mitwirkung von Bakterien an der Bildung höherer Alkohole bei der Gärung. (Biochem. Zeitschr. Bd. X. 1908. p. 490.)

Verf. hatte früher im Laboratoriumsversuch gefunden, daß die Entstehung von Fuselöl bei der alkoholischen Gärung durch Zusatz von Ammonsulfat gehemmt wird, indem das Leucin, die Hauptquelle des Fuselöls, gegen den Angriff der Hefe geschützt wird. Im Großbetriebe wurde der Versuch bestätigt. Die Menge des gebildeten Fuselöls sank auf die Hälfte, ließ sich aber nicht weiter herabdrücken. Bisweilen wurde auch eine Steigerung der Alkoholausbeute beobachtet. Die das Fuselöl liefernden Aminosäuren werden ziemlich gleichmäßig geschützt. Nur gegenüber Isoleucin scheint der Schutz geringer zu sein als gegen Leucin, da der bei Gegenwart von Ammonsulfat gebildete Amylalkohol sich stärker drehend erwies als bei gewöhnlicher Gärung.

Außer den gewöhnlichen Bestandteilen des Fuselöls werden auch n-Butylalkohol und Isopropylalkohol gefunden, deren Entstehung nur auf Bakterienwirkung zurückgeführt werden kann. Das untersuchte Fuselöl verdankt seinen Ursprung also zwei verschiedenen Vorgängen, erstens der Wirkung der Hefe auf die Eiweißspaltungsprodukte ihres eigenen und des in den Gärmaterialen enthaltenen Eiweißes, und zweitens der Wirkung des Buttersäurebakteriums. Doch braucht keineswegs jedes Fuselöl auf diesem doppelten Wege entstanden zu sein. Kurt Meyer (Stettin).

Mangin, L. et **Patouillard, N.,** Sur une moisissure du blé latouag, le Monilia Arnoldi n. sp. (Bull. soc. mycol. France. T. XXXIV. 1908. p. 156—164.)

Unter blé latouag versteht man ein Fermentationsprodukt des Getreides mit toxischen Eigenschaften, welches die Eingeborenen Algiers durch Eingraben des Weizens in Erdhöhlungen erzielen. Auf diesem „latouag“ wurde ein Schimmel beobachtet, dessen genaue Beschreibung die Verff. in vorliegender Arbeit geben.

Der Pilz gedeiht auf verschiedenen Nährböden (Möhre, Kartoffel etc.); wenig sagen ihm saure Nährböden zu, während er auf neutralen und schwach alkalischen gut gedeiht. Trotz zahlreicher Versuche gelang es

kristalle erhalten, aus einer 429 Tage alten Jodoformketonmilch aber keine mehr. Es wird also der Milchzucker in der Jodoformketonmilch allmählich umgesetzt (in gekochter und in Formolmilch nicht).

Aus den Ergebnissen endlich, welche die Prüfung auf Säure (sogleich, nach 155, nach 159 Tagen) zu Tage gefördert hat, kann nach Verf. nicht abgeleitet werden, daß gebildete Säuren einen Einfluß auf die Zersetzung des Milchzuckers ausüben.

Es wird durch alle diese Untersuchungen festgestellt, daß der Milchzucker in der rohen Kuhmilch einer Zersetzung unterliegt, vermutlich infolge der Anwesenheit eines Milchzucker zerstörenden Enzyms. Denn gekochte Milch oder durch Formol sterilisierte lassen eine solche Zersetzung nicht erkennen. Das Enzym erzeugt aus dem Milchzucker nicht reduzierende Verbindungen, welche Verf. „erst nach neuen und langandauernden Untersuchungen zu erkennen hofft“. Diese Verbindungen wirken auf die Polarisation und deren Erzeugung ist weder von der Bildung flüchtiger Substanzen noch von einer Erhöhung der Säuremenge begleitet. Th. Bokorny (München).

Schröder, August, Untersuchungen über den Einfluß der Kühlung auf die Haltbarkeit und den Keimgehalt der Milch. [Leipziger Dissert.] 8°. 67 p. Dresden 1908.

Erwiesen ist, daß, abgesehen von der individuellen Verschiedenheit der einzelnen Tiere, sowohl in bezug auf die anfängliche Keimzahl und die nachfolgende Zunahme derselben im allgemeinen bei 18—22° C schon nach 24 Stunden eine beträchtliche Zunahme der Keime stattgefunden hat, während bei 8—13° C die Vermehrung derselben erst nach 48 Stunden in ganz geringem Maße beginnt.

Der Grad der Abkühlung verändert den Keimgehalt der Milch nicht; ebensowenig zeigt die spätere Vermehrung der Keime Differenzen infolge der verschieden tiefen Abkühlung. Auch der ungehinderte Luftzutritt beim Berieselungsverfahren bewirkte bei der herrschenden Sauberkeit und guten Ventilation des Milchraumes — die Versuche wurden im zootechnischen Institute der Kgl. tierärztlichen Hochschule zu Dresden angestellt — keine nennenswerte ungünstige Beeinflussung des Keimgehaltes gegenüber der Kühlung in geschlossener Flasche. Jedoch auch hier tritt die schnelle Vermehrung der Keimzahl infolge der dauernden Aufbewahrung bei höheren Temperaturen scharf hervor, und zwar in noch bedeutend höherem Grade als bei den ersten Versuchen, was wohl hauptsächlich durch die um 2—4° C höhere Außentemperatur veranlaßt sein dürfte. Jedenfalls trägt auch der höhere anfängliche Keimgehalt der Mischmilch zu dieser Erscheinung bei, da durch zahlreiche Keime die bakteriziden Stoffe der Milch stärker in Anspruch genommen und also schneller verbraucht werden. Es ergibt also auch hier die Tatsache, daß nur eine dauernde Kühlhaltung der Milch die Vermehrung der Keime längere Zeit hindurch verhindert, während eine einmalige Abkühlung von kürzerer Dauer auch in dieser Beziehung keinen erheblichen Nutzen bringt.

Die gefrorene Milch besaß nach dem Auftreten einen geringeren Keimgehalt als vor dem Gefrieren; nach dem Auftauen hielt die Keimvermehrung mit der in entsprechend gewonnener frischer Milch unter gleichen Temperaturverhältnissen gleichen Schritt. Auch hier beobachtet man, daß bei anfangs keimarmer Milch die Keimvermehrung weniger schnell vor sich geht als bei keimreicherer.

Beim Kühlmelken war anfangs ein etwas geringerer Keimgehalt zu konstatieren als in der auf gewöhnliche Art gemolkenen Milch; jedoch war dieser Unterschied so unbedeutend, daß derselbe auf die spätere Vermehrung ohne jeden Einfluß war. Die Versuche über den Beginn der Kühlung längere Zeit nach dem Melken und Aufbewahrung bei verschiedenen Temperaturen vor dem Keimen ergaben, daß eine der natürlichen Abkühlung durch die Luft überlassene Milch nicht ungünstiger abschnitt, als wenn dieselbe nach längerer Zeit einer kurzen Abkühlung unterworfen wurde; wesentlich günstiger wirkte eine sofort begonnene und länger erhaltene Kühlung. E. Roth (Halle).

Kossowicz, Alexander, Untersuchungen über den Bakteriengehalt der Trockenmilch. (Zeitschr. für das Landwirtschaftliche Versuchswesen in Oesterreich. XI. Jahrg. 1908. p. 719.)

Die Einwirkung des Erhitzens auf den Bakteriengehalt der Trockenmilch wird am stärksten beim Hatmakerschen und bei diesem ähnlichen Verfahren zur Geltung kommen, bei welchen die Milch zuerst durch Kochen eingedickt wird und dann in sehr dünner Schicht über eng aneinander gerückte, gegeneinander rotierende Trockenwalzen fließt, die auf eine Temperatur von 115—130° C erhitzt werden, wobei das Wasser verdunstet. Die noch feuchte Trockenmilch wird dann durch Messer in Blättern abgelöst. Die vorliegenden Versuche sollten nun feststellen, ob die Hatmakersche Trockenmilch unmittelbar nach der Trocknung bei sorgfältiger Vermeidung einer Nachinfektion sich als steril erweist und welche Bedeutung für die Keimverminderung, bezw. Keimvernichtung dem Walzenprozeß oder eigentlichen Trocknungsprozeß selbst zukommt, der nicht bloß für die Herstellung von Trockenmilch, sondern auch für die Bereitung anderer Trocken-(Dauer-)Präparate Anwendung finden kann, da über beide Fragen experimentelle Untersuchungen vollständig fehlen. Die Befunde wurden in engem Anschluß an die Fabrikation in der Praxis selbst gewonnen und führten zu den folgenden Resultaten: 1) Die nach dem Hatmakerschen Verfahren erhaltene Trockenmilch kann nicht als keimfrei betrachtet werden (sie enthält in 1 g bei Gelatine 45—80 Keime, bei Agar 50—76 Keime), sofern nicht eine besondere Vor- oder Nachbehandlung der Milch stattfindet. 2) Der Bakteriengehalt der frischen Milch wird durch den Trocknungsprozeß sehr stark, auf nahezu ein Tausendstel des ursprünglichen Keimgehaltes herabgedrückt. 3) Der Walzenprozeß allein übt eine geringere keimvernichtende Wirkung aus. Nicht nur der sporenbildende Bacillus sinapivagus, sondern auch die hitzeempfindlichen Spaltpilze Bacillus prodigiosus und B. fluorescens liquefaciens entgingen zum Teil der völligen Vernichtung. 4) Die Trockenmilch erfährt im Sammelgefäß eine starke Keimvermehrung (in 1 g bei Gelatine 840—1250 Keime, bei Agar 750—1200 Keime). 5) Der Keimgehalt wird durch mehrmonatliche Aufbewahrung in geschlossenen Büchsen wieder herabgedrückt (in 1 g bei Gelatine 520—930 Keime, bei Agar 450—700 Keime). Stift (Wien).

Klotz, Max, Ueber Yoghurtmilch als Säuglingsnahrung. (Jahrb. für Kinderheilkunde etc. III. F. Bd. XVII. 1908. Ergänzungsheft. p. 1.)

Die Yoghurtmilch bleibt nach den an der Säuglingsabteilung des Magdeburger Krankenhauses gewonnenen Erfahrungen bei gesunden

Säuglingen nur ein Notbehelf. Bei der umständlichen Herstellung können leicht schädliche Keime in die Milch geraten; Hefe, Soor, Heubacillen entwickeln sich auf dem sauren Medium mit großer Leichtigkeit. „Mit gutem Gewissen darf man einem Säugling nur dann die Yoghurtflasche geben, wenn man täglich genau feststellt, wie Geruch und Geschmack der Nahrung ist, wie hoch die Gesamtazidität ist und welche Resultate ein Ausstrichpräparat ergibt. Rechnet man noch dazu die umständliche Zubereitung, die eventuellen Anschaffungskosten für Wärmekiste und dergleichen, dann erscheint der Schluß zwingend, daß die Yoghurternährung und -therapie ausschließlich Sache des Krankenhauses sein sollte."

Der Bakteriologie des Yoghurts ist ein eigenes, umfangreiches Kapitel gewidmet. Der prädominierende Bacillus ist der B. bulgarus, der eingehend beschrieben wird. Er ist entfernt ähnlich dem B. caucasicus des Kefirs, der aber Sporen bildet und Milch nicht koaguliert. Dagegen vermag jeder einzelne der Yoghurt-Mikroben schon für sich allein Milch zum Gerinnen zu bringen. Bei dem Temperaturoptimum des B. bulgarus von 45° C gerinnt die Milch bereits in 5 Stunden. Die Kokken des Yoghurt, grampositiv, treten einzeln, als Diplokokken, in Häufchen oder Ketten auf. Die weiter noch vorhandenen Streptobacillen, gleichfalls grampositiv, bilden dicke, oft leicht elliptische Stäbchen, die in Ketten, bis zu 10 Gliedern lang, angeordnet sind. Der B. Massol erscheint als Fremdling in unserer Bakterienflora, läßt sich nicht aus einheimischer Dickmilch züchten, akklimatisiert sich aber leicht bei uns. Aus Trockenfermenten, die zum ersten Male wieder als Säurewecke Verwendung finden, keimen öfters Massolsche Bacillen mit einer etwas uncharakteristischen Form aus. Erst nach mehrmaligem Umimpfen gehen sie in die bekannte schlanke Stäbchenform über und bilden Linienserien. Man kann originalen oder Laktobacillen-Yoghurt (wie Klotz im Gegensatz zu anderen Autoren angibt) unbeschadet fortimpfen, ohne eine Verschlechterung der Qualität befürchten zu müssen. Besonders eignet sich Magermilch zur Herstellung des Yoghurts. — Das Laktobacillin stellt ein Gemisch von Bakterienreinkulturen dar, und zwar der B. bulgari und der B. paralactici, demnach orientalischer und occidentaler Milchsäurebildner. Die Herstellung des Laktobacillin-Yoghurts lehnt sich an die der originalen Sauermilch an. Die Milch soll zuerst gekocht werden und danach soll das Laktobacillin zugesetzt werden. Nach 5—7-stündigem Verweilen bei Bruttemperatur ist der Yoghurt fertig. Man kann aber auch das Laktobacillin erst vor dem Trinken der gezuckerten, erwärmten Milch zufügen und die Milchsäuregärung sich im Organismus vollziehen lassen. Von der Bouillon paralactique (Tissier) und den Laktobacillintabletten als Therapeuticum hält Klotz nichts.

Albert Uffenheimer (München).

Gorini, Costantino, Ricerche comparative fra presami animali. (Rendicondi del R. Istituto lombardo di scienze. Serie II. Vol. XLI. 1908.)

Aus den vergleichenden Beobachtungen, welche Verf. angestellt hat, erhellt:

1) Daß zwischen den tierischen Laben und den bakterischen Laben mehrfache Affinitäten bestehen, sowohl bezüglich des intimen, sozusagen untrennbaren Bandes, welches die koagulierende Wirkung mit der proteolytischen Wirkung der Labe selbst verbindet wie auch bezüglich des

Verhaltens dieser zwei Wirkungen gegenüber einigen Bedingungen der Umgebung.

2) Daß sowohl die tierischen wie die bakterischen Labe eine sonderbare Unabhängigkeit von der Temperatur aufweisen, indem sie auch bei 0° nahestehenden Temperaturen wirken.

3) Daß die gründlichen Forschungen über die Biologie der Lab bildenden Bakterien noch nicht gestatten, anzunehmen, daß die bakterischen Labe diejenige spezifische proteolytische Wirkung auf das Kasein besitzen, welche, nach einigen Autoren, dem Kalblab zukommt.

Bertarelli (Parma).

Hohl, J. und **Steinegger, R.,** Ueber fadenziehenden Emmentalerkäse. (Landwirtschaftliches Jahrbuch der Schweiz. Bd. XXII. 1908. p. 272.)

Das Ausgangsmaterial für die vorliegende Untersuchung, die an der schweizerischen milchwirtschaftlichen und bakteriologischen Anstalt Liebefeld ausgeführt wurde, bildete fehlerhafter Emmentalerkäse, welcher sich durch ganz besondere Eigenschaften unvorteilhaft auszeichnete. Wenn man nämlich ein Stück desselben entzweibrach und die Bruchstücke langsam voneinander entfernte, so blieben dieselben bis auf die Entfernung von ½ m durch ein dichtes Fadengewebe miteinander verbunden. Der Käse, dessen Geschmack sich als normal erwies, war demnach stark fadenziehend.

Bei mikroskopischer Prüfung machten sich Formen von Bacterium Güntheri Lehm. et Neum. = Bacterium lactis acidi Leichmann in den Präparaten besonders bemerkbar. Durch Aussaat in sterile Magermilch und in Milchzuckerbouillon und Anlegen von Gelatineplattenkulturen und Schottenagar-Schüttelkulturen nach Burri gelang es den Verff. eine schleimbildende Bakterie von Güntheri-Form zu isolieren. Nur in der Bouillonversuchsreihe trat die Erscheinung des Fadenziehens nicht weiter auf.

Der Organismus wurde in den allgemein gebräuchlichen Nährsubstraten kultiviert, und die Verff. erhielten dabei immer wieder typische Güntheri-Formen und zwar fast ausschließlich die charakteristischen, an den Enden mehr oder weniger deutlich zugespitzten Doppelstäbchen. In Fuchsinpräparaten hatten die Stäbchenpaare eine Breite von 0,8—1,0 μ und eine Länge von 2—3 μ.

Besonders eingehend studierten die Verff. das Verhalten dieser Bakterie zu Milch, Rahm und Käse und zwar sowohl in biologischer als auch in chemischer Hinsicht.

Der Spaltpilz besitzt das Vermögen, das Kaseïn in sterilisierter Magermilch abzubauen. Kreidezusatz erhöht diese Eigenschaft und ermöglicht die vollständige Umsetzung des Milchzuckers. In nicht sterilisierter Vollmilch wird das Kaseïn ebenfalls abgebaut; die Beigabe von Labferment war ohne wesentlichen Einfluß. Auch der geimpfte Rahm war nach 24 Stunden stark schleimig und fadenziehend; die spätere chemische Untersuchung lieferte keine sicheren Anhaltspunkte für Veränderung des Fettes. Dagegen nahmen Säuregrad der Butter und der Buttermilch erheblich zu; der Organismus ist also ein kräftiger Säurebildner. Er erzeugt in Milch Rechtsmilchsäure, welche Eigenschaft auch dem Bacterium Güntheri L. et N. zukommt.

Systematisch ist die vorliegende Bakterie am nächsten der schleim-

bildenden Güntheri-Form verwandt, die schon früher von Burri aus frisch gemolkener Milch, aus Molken und frischem Käse isoliert wurde. Doch unterscheidet sich die vorliegende Form durch das Vermögen, auch in sterilisierter Milch Fadenziehen hervorzurufen und ferner auch dadurch, daß sie in Rohmilch bei 20° deutliches, bei 30° sehr starkes Fadenziehen verursacht, während diese Erscheinung bei dem früher beschriebenen Organismus bei 38° C am stärksten auftrat.

Weitere Versuche orientieren auch über die Herkunft des Schleimbildners. Jene Betriebsstörung in der Emmentalerkäsefabrikation, infolge welcher der fadenziehende Käse entstanden war, der die vorliegende Untersuchung veranlaßt hatte, klärte sich folgendermaßen auf: Die Infektion ging von einem Brunnentroge aus, in welchem das Milchgeschirr nach dem Gebrauche jeweilen gereinigt wurde. Wasserproben, welche zur Aussaat in sterile Magermilch verwendet wurden, erzeugten deutlich Fadenziehen, und es ließ sich aus dieser Milch wieder die gleiche schleimbildende Güntheri-Form isolieren, wie die Verff. sie aus dem fadenziehenden Käse herausgezüchtet hatten. Dagegen zeigte die Milch, welche mit Wasser direkt vom Brunnenrohr weg geimpft wurde, keine Spur von Schleimbildung. Von wo aus die Bakterie in den Brunnentrog gelangt war, ließ sich nicht mehr ermitteln.

Um das Verhalten des isolierten Schleimbildners schließlich auch bei der Käsefabrikation studieren zu können, wurden in der Versuchskäserei der Anstalt zwei Käse in möglichst gleicher Weise hergestellt, wobei der zu verarbeitenden Milch infizierte, fadenziehende Milch zugesetzt wurde. Aus beiden Käsen ließen sich nach einiger Zeit die Schleimbildner wieder isolieren. Während aber der eine der beiden Versuchskäse völlig ungenießbar wurde, lieferte der andere, trotz der reichlichen Impfung mit dem Schleimbildner, ein gutes, handelsfähiges Produkt.

Die Verff. machen darauf aufmerksam, daß dieses Resultat in Einklang mit den Erfahrungen der Praxis steht, wonach das Auftreten von schleimbildenden Bakterien im Betrieb nicht immer ausgeprägt fehlerhafte Käse im Gefolge hat. Es kommt dabei vor allem auf die Art des Schleimbildners an und auf den Grad, in welchem er die normalen Käsebakterien zu verdrängen vermag.

Schneider-Orelli (Wädenswil).

Fincke, H., Ueber einen afrikanischen Pflanzenkäse. (Sitz.-Berichte, herausgegeben vom naturhistorischen Verein der preußischen Rheinlande und Westfalens. 1907. 2. Hälfte. C. 21—24. Bonn 1908.)

Zu den Nahrungs- und Genußmitteln, welche für die Eingeborenen Togos und anderer Gebiete des Sudans von Bedeutung sind, gehören käseartige Produkte (= Bohnenkäse-Sorten), die aus den geschälten Samen der Parkia africana R. Br. (einer Mimosaceen-Art) bereitet werden. Die haltbare Form heißt Daua-Daua, die frische weiche Form Afiti. Der Verf. beschreibt die Parkia-Samen und die Zubereitung der zuerst genannten Käseart. Der Samenkern bildet das Material für den Käse, er ist stärkefrei. Der Käse selbst ist ein flacher, dunkelbrauner Kuchen von der Konsistenz eines Hartkäses; in der Grundmasse sind Kotyledonenstücke eingelagert. Der Geruch ist aromatisch, der Geschmack bitter-scharf. Die chemische Zusammensetzung braucht hier nicht angegeben zu werden. Die in dieser Art von Käse vorkommenden Bakterien wurden reingezüchtet. Es sind lauter Stäbchenbakterien

mit endogener Sporenbildung, zwei Aërobier und zwei Anaërobier. Die ersten haben stark eiweißspaltende Wirkung, sie zersetzen Protein bis zu Ammoniak. Der größere der Aërobier greift das Eiweiß stärker an, bildet vor allem mehr Ammoniak. Von den Anaërobiern ist das eine ein säurebildender Bacillus (vermutlich ein Buttersäurebacillus), der andere ein Fäulnisbacillus, der Proteinstoffe unter starker Gas- und Gestankentwickelung zersetzt. Man hat es also mit einer kombinierten Gärung zu tun: Der Proteinabbau ist auf die Aërobier und den Fäulnisbacillus, die Bildung von Säure aus Kohlehydraten auf den anderen Anaërobier zurückzuführen; die geruchbildenden Stoffe dürften besonders die Anaërobier, die Aërobier aber auch durch die Ammoniakerzeugung hervorbringen.

Das käseartige Produkt „Pemben" aus Kamerun, gewonnen aus den Samen von Treculia africana Decne (Moracee), ist quarkartig; seine Entstehung beruht wesentlich auf Milchsäuregärung.

Schließlich wird der „Daua-Daua" mit dem japanischen „Natto"-Käse (aus Sojabohnen gewonnen) verglichen. Matouschek (Wien).

Fischer, Hugo, Ueber Probleme der Bodenbakteriologie. (Deutsche landw. Presse. 1908. No. 20 u. 21.)

Zu den ganz allgemeinen Schwierigkeiten, welche dem Eindringen in die biologischen Eigenschaften des Bodens entgegenstehen, gesellen sich die in den Eigenschaften der Mikroorganismen und des Bodens selbst begründeten. Die Veränderlichkeit der physiologischen Eigenschaften der Spaltpilze wird sehr oft bewirken, daß die aus dem Boden reingezüchteten Arten schon während der Isolierungsarbeiten neue Funktionen annehmen, und der sterilisierte Boden hat sich chemisch und physikalisch so sehr verändert, daß er nicht mehr als das ursprüngliche natürliche Substrat gelten kann. Ferner erfolgt eine beständige starke Beeinflussung der Kleinlebewelt des Bodens durch seinen Wassergehalt und die Zusammensetzung der umgebenden Luft.

In der Bodenbakteriologie sollte nicht die in der bakteriologischen Technik sonst übliche Schaffung optimaler Entwickelungsbedingungen für die zu studierenden Arten erstrebt werden, sondern normaler, den Bodenverhältnissen entsprechender Kulturbedingungen. Einer Erklärung bedürfen die noch ganz unbekannten Vorgänge, welche sich durch Enzymtätigkeit ohne lebende Zellen im Boden vollziehen.

Verf. geht in Kürze auf die Mängel der zur Verfügung stehenden Methodik ein. Keines der Verfahren, welche bisher zur Charakterisierung der biologischen Bodenfunktionen dienen, ist frei von Schwächen und Fehlerquellen. (Die gerügten Ungenauigkeiten wurzeln vornehmlich darin, daß die Organismen des Bodens bei der Laboratoriumsuntersuchung unter Bedingungen gebracht werden, welche sich von denen der Praxis allzusehr entfernen. Da es aber häufig nur auf die Gewinnung von Vergleichswerten ankommt, so können doch schon mit den jetzigen Hilfsmitteln manche wichtige Hinweise erlangt werden. Notwendig ist nur, daß die an bestimmten Orten ermittelten Beziehungen zwischen der bakteriologischen Beschaffenheit des Bodens und seiner Produktionsfähigkeit sich auch anderwärts ergeben, also einer weitgehenden Verallgemeinerung fähig sind und als etwas völlig Konstantes, Unabänderliches immer wieder hervortreten. Ref.)

Wichtige Aufschlüsse hat uns das Anhäufungsverfahren gebracht,

das, wie bekannt, von Winogradsky und Beijerinck mit großem Erfolg für die Bodenbakteriologie nutzbar gemacht wurde.

Die Hauptfragen des bakteriellen Stoffumsatzes im Boden kann man betrachten unter dem Kreislauf des Kohlenstoffes und des Stickstoffs. Verf. geht auf diese Fragen in Kürze ein und bezeichnet zu deren weiterer Klärung ein intensiveres Studium der beteiligten Arten in Reinkultur für unerläßlich. „Es wird nötig sein, die Bakterienflora des Bodens, einschließlich der niederen Pilze und Algen (vielleicht auch der Infusorien, Amöben usw., die im Boden häufig sind und dort vielleicht besondere, noch unbekannte Wirkungen ausüben), genauer, als bisher geschehen, zu analysieren, zunächst jede häufiger vorkommende Art genau in ihrem Verhalten unter verschiedensten, aber möglichst der Natur angepaßten Bedingungen zu verfolgen, dann aber bei der Reinkultur nicht stehen zu bleiben, sondern weiter in „reiner Mischkultur" verschiedene Organismen zusammen wirken zu lassen. Vielleicht gelingt es, leicht nachweisbare und erkennbare „Leitbakterien" ausfindig zu machen, deren Vorkommen oder Fehlen, deren Vorherrschen oder Zurücktreten für bestimmte Böden und Bodenzustände charakteristisch wäre." Vogel (Bromberg).

Remy, Die Bakterien in der Landwirtschaft. (Vortrag, geh. im Febr. 1908.) Bonn 1908.

In einem während des Vortragskursus der Landwirtschaftskammer für die Rheinprovinz im Februar 1908 gehaltenen Vortrage besprach R. in allgemeiner, den modernen Anschauungen Rechnung tragender Form die Bedeutung der Kleinlebewesen für die Landwirtschaft. Berücksichtigung fanden die Erreger von Tier- und Pflanzenkrankheiten, die in der Milchwirtschaft und den Gärungsgewerben eine Rolle spielenden Mikroorganismen und, in ausführlicherer Weise, die Bakterien des Ackerbodens. Vogel (Bromberg).

Krzemieniewska, H., Zur Ernährung des Azotobacters. (Bulletin international de l'académie des sciences de Cracovie, classe des sciences mathém. et naturelles. 1908. p. 445—448.)

Es erschien wünschenswert, die früher von Gerlach und Vogel ausgeführten Untersuchungen über den Mineralstoffbedarf des Azotobacter, bei denen sich ergeben hatte, daß die Gegenwart von Kali nicht nötig zu sein schien, unter strikter Befolgung der neuerdings von W. Benecke für derartige Prüfungen angegebenen Vorsichtsmaßregeln zu wiederholen. Zu den Untersuchungen, die im agrikulturchemischen Laboratorium Prof. Godlewskis in Krakau durchgeführt wurden, diente eine Nährlösung von 0,25 Prom. $MgSO_4$, 0,25 Prom. $CaHPO_4$ und 15 Prom. reinem Traubenzucker, die zu je 100 ccm in große Erlenmeyer-Kolben aus Jenaer Glas verteilt, danach mit 8,7 mg K_2SO_4 bezw. mit 7,1 mg Na_2SO_4 versetzt, dreimal im strömenden Dampf sterilisiert, mit Azotobacter-Reinkulturen geimpft und bei 28° aufbewahrt wurde. Trotz wiederholter Impfung blieb die Flüssigkeit in den Kolben ohne Kali dauernd klar, der Zucker wurde nicht angegriffen, während im anderen Falle unter starkem Zuckerverbrauch rasch eine deutliche Trübung sich bemerkbar machte und eine Stickstoffbindung von 0,68—0,72 mg zu konstatieren war. Wurde außerdem eine geringe Menge (ca. 0,1 g pro 100 ccm) aus Erde dargestelltes humussaures Natron der Lösung hinzugefügt, so ergab sich für die Kolben mit K_2SO_4 eine Stickstoff-

zunahme von 5,57—5,73 mg, für diejenigen ohne Kalizusatz 1,00—1,47 mg; die Entwickelung wurde hier durch die geringen mit der Humussubstanz zugeführten Kalimengen ermöglicht. Durch Rubidium konnte das Kali nicht ersetzt werden. Ein ausführlicher Bericht über weitere Versuche in dieser Richtung wird angekündigt. Löhnis (Leipzig).

Beijerinck, M. W., Binding van vrije atmospherische stikstof door Azotobacter in reinkultuur. (Versl. der wisen natuurk. afdeel. kon. Akad. van Wetenschappen. Amsterdam. 1908. p. 46—53.)

Während es dem Verf. nicht möglich war, bei Verwendung von Kohlehydraten Stickstoffbindung durch Azotobacter-Reinkulturen zu erreichen, trat diese dann ein, wenn organische Salze, speziell Calciummalat, auf dessen Brauchbarkeit B. schon früher hingewiesen hatte, zum Versuche herangezogen wurden. In Leitungswasser mit 2 Proz. Calciummalat (von Merck) + 0,05 Proz. K_2HPO_4, geimpft mit 10—20 Proz. Grabenwasser oder ein wenig Erde, entwickelte sich nach 2—3 Tagen bei 30° eine treibende Azotobacter-Haut, die vorwiegend aus einer stark beweglichen, dem Azotobacter agilis bezw. Azotobacter vinelandii nahestehenden Azotobacter-Form bestand. Zur Isolierung diente ein Agar, das unter Verwendung von Leitungswasser, 0,05 Proz. K_2HPO_4 und 1 Proz. Calciummalat in der Weise bereitet wurde, daß in einigen im Reagensglas befindlichen Tropfen einer konzentrierten Kaliummalatlösung das Calciummalat sowie das Kaliumphosphat unter Zusatz von möglichst wenig Wasser gelöst und dieses Gemisch dann erst dem flüssig gemachten (½—1-proz.) Agar hinzugefügt wurde; bei anderer Arbeitsweise wird das Agar trübe durch abgeschiedenes Calciumphosphat. Auf diesen Calciummalatplatten wächst Azotobacter besser als auf Mannit-Glukose-Agar; bereits nach 24 Stunden erscheinen (bei 30°) die Kolonieen, die infolge der Malatoxydation eine kräftige Calciumcarbonatabscheidung bewirken. Während bei Benutzung des Mannitagars aus Lösungen mit bekanntem Keimgehalt nur 0,3—2 Proz. der vorhandenen Azotobacter-Zellen zur Koloniebildung kamen, stellte sich diese Zahl für Glukose-Malatplatten auf 20—65 Proz. und war bei Malat allein noch höher. Die Verwendung dieses Agars ist demnach besonders dann angezeigt, wenn man die Zahl der in einer Erdprobe vorhandenen Azotobacter-Zellen annähernd bestimmen will.

Außer Malat erwies sich auch Calciumlactat, -acetat und -propionat zur Anhäufung geeignet. Bei der Weiterzüchtung war die Ueberimpfung von Malat in Lactat fast ebenso erfolgreich wie von Malat in Malat, dagegen gelangen die Abimpfungen in Propionat- und Acetatlösungen meist nicht. Beim Uebergange von Malat in Propionat oder Acetat war die Entwickelung zunächst sehr gut, doch nicht von Dauer. Die voraufgehenden Züchtungsbedingungen sind also von großem Einfluß auf das Wachstum der folgenden Generationen. Citrat, Tartrat und Succinat gaben nur mäßige Entwickelung.

Am Schlusse des Versuches wurden die Kulturen unter Erwärmen mit einer bestimmten Menge Salzsäure (zur Vertreibung der Kohlensäure) behandelt, mit Normalkali (Phenolphthalein als Indikator) zurücktitriert, und danach das gebildete $CaCO_3$ bezw. das oxydierte Calciummalat berechnet. Hierauf folgte in gewöhnlicher Weise, nach Eindampfen der schwefelsauer gemachten Lösung, die Stickstoffbestimmung nach

Kjeldahl. In Rohkulturen wurden pro Gramm oxydiertes Salz 1,8 bis 4,7 mg, in Reinkulturen 1,5—1,8 mg Stickstoff gebunden. Die seit Jahren bestehende Differenz zwischen Beijerincks Angaben auf der einen, zahlreicher Autoren auf der anderen Seite ist nunmehr also insofern gemildert, als auch B. selbst jetzt Stickstoffbindung in Azotobacter-Reinkulturen erhielt. Die Kohlehydrate hält er jedoch auch jetzt noch für diesen Zweck untauglich und meint, daß diese in den Rohkulturen erst durch andere Bakterien in organische Salze übergeführt werden müßten.

Mit Hilfe der Calciummalatplatten wurden verschiedene Bodenproben in bezug auf Häufigkeit der darin vorkommenden Azotobacter-Zellen untersucht, dabei erwies sich die zwischen Leguminosenwurzeln entnommene Erde als besonders stark Azotobacter-haltig. Außerdem kamen zahlreiche Kolonieen einer Megatherium-Varietät, sowie von Streptothrix alba zu beschränkter Entwickelung, die beide das Malat schwach oxydierten. Löhnis (Leipzig).

Nobbe, Richter und **Simon**, Versuche über die wechselseitige Impfung verschiedener Leguminosengattungen mit Reinkulturen von Knöllchenbakterien. (Die landw. Versuchsstationen. Bd. LXVIII. p. 229.)

Nobbe, Richter und **Simon**, Weitere Untersuchungen über die wechselseitige Impfung verschiedener Leguminosengattungen. (Ebenda. p. 241.)

Die Versuche der Verff. sollten zunächst eine Antwort geben auf die Frage: Kann die aus den Wurzelknöllchen einer bestimmten Leguminosenart gezüchtete „Reinkultur" von Knöllchenbakterien auch andere Species der gleichen Gattung förderlich beeinflussen? Es wurden daher in Vegetationsgefäßen (Blumentöpfen) in steriler Erde die folgenden Leguminosen angebaut:

Saat- und Ackererbse, Pisum sativum und arvense, Saat- und Zottelwicke, Vicia sativa und villosa, Gelbklee und Luzerne, Medicago lupulina und sativa, Rot- und Weißklee, Trifolium pratense und repens. Als Impfmaterial wurde für beide Arten jeder der 4 Gattungen eine Reinkultur von Knöllchenbakterien der erstgenannten Species der betreffenden Gattung verwendet. Die genannten 8 Arten kamen in je 10 Gefäßen zur Aussaat, von welchen 2 ungeimpft blieben und 2 geimpft wurden mit Reinkulturen von Pisum sativum, Vicia sativa, Medicago lupulina und Trifolium pratense.

Das Ernteergebnis sowie Beobachtungen über Zahl, Gestalt und Verteilung der Wurzelknöllchen haben überzeugend dargetan, daß die aus den Knöllchen einer bestimmten Leguminosenart gezüchtete „Reinkultur" auch andere Arten der gleichen Gattung förderlich beeinflußt. Durch die von der Saaterbse abstammenden Bakterien ist neben dieser auch die Ackererbse, durch die Saatwickenbakterien auch die Zottelwicke, durch die Bakterien von Medicago lupulina auch Medicago sativa, durch die Rotkleebakterien auch die Weißkleepflanze mächtig gefördert worden. Im allgemeinen entwickelten die Knöllchenbakterien eine solche wachstumfördernde Symbiose nur an Arten der gleichen Gattung. Es gibt jedoch Leguminosengattungen, bei denen durch gegenseitige Impfung eine unmittelbare Stickstoffernährung ausgelöst wird. Eine vollständige Vertretbarkeit waltete in den Versuchen zwischen Erbse und Wicke ob.

Im Anschluß an diese Versuche wurden 7 Leguminosenarten mit Reinkulturen aller 7 Gattungen geimpft. Es handelte sich um Laburnum vulgare, Trifolium incarnatum, Lotus corniculatus, Robinia Pseudacacia, Ornithopus sativus, Onobrychis sativa, Lupinus luteus.

Es ergab sich:

1) Gelbe Lupine. Die Impfung mit den eigenen Bakterien und mit Seradellabakterien hat den Ertrag gegen „ungeimpft“ um das $3^1/_2$-fache gesteigert. Alle anderen Fremdimpfungen sind völlig wirkungslos geblieben.

2) Seradella. Der Ertrag an Trockensubstanz wurde durch die eigenen Bakterien um das 4-fache gesteigert, auch die Lupinenbakterien waren sichtlich in Funktion getreten. Die Anpassungsfähigkeit der von Lupinen und der von Seradella abstammenden Bakterien ist also eine gegenseitige.

3) Beim Inkarnatklee hat lediglich die von Kleewurzeln stammende Bakterienzucht eine Stickstoffernährung und damit ein ersprießliches Wachstum vermittelt.

4) Hornklee wurde in ausgesprochenem Maße nur durch Lotusbakterien gefördert, eine leise Verwandtschaft schienen allerdings auch die Lupinenbakterien zu verraten.

5) Bei Esparsette war, wahrscheinlich wegen einer Wurzelerkrankung der Pflänzchen, auch die Impfung mit den eigenen Bakterien wirkungslos geblieben.

6) Bei der Robinie haben sich nur die von der gleichen Gattung herstammenden Knöllchenbakterien als Stickstofflieferanten wirksam erwiesen.

7) Bei Laburnum vulgare scheinen nur die Goldregenbakterien wirksam gewesen zu sein, Verff. wollen jedoch den nicht ganz einwandfrei verlaufenen Versuch unberücksichtigt lassen.

Von den geprüften Leguminosengattungen sind also nur die Seradella und Lupine durch Bakterien gefördert worden, welche den Wurzelknöllchen der anderen Gattung entstammen. Die Knöllchenbakterien dieser Hülsenfrüchte stehen daher in einem ähnlichen unmittelbaren Vertretbarkeitsverhältnisse zueinander wie die der Wicke und Erbse.

Vogel (Bromberg).

Pfeiffer. Das Stickstoffkapital im Ackerboden bei einseitiger Düngung mit Salpeter. (Fühlings landw. Ztg. 1908. p. 41.)

Verf. hat bei früherer Gelegenheit dargelegt, daß durch alleinige Anwendung von Chilisalpeter und Ammoniksalzen kein vollständiger Ersatz für den dem Ackerboden in den Ernten entnommenen Stickstoff erfolgen kann. Eine längere Zeit fortgesetzte einseitige Düngung mit Salpeter und schwefelsaurem Ammoniak muß daher als Raubbau auf Stickstoff gekennzeichnet werden, dessen schädliche Folge später als bei gänzlichem Fortfall jeder Stickstoffdüngung, aber immerhin in absehbarer Zeit zur Geltung kommen wird.

Eine Bestätigung dieser Anschauungen fand Verf. in dem reichen kürzlich veröffentlichten Versuchsmaterial Paul Wagners über die Stickstoffdüngung der Kulturpflanzen. Wagner hat aus seinen Versuchen berechnet, daß bei ausschließlicher Düngung mit Stickstoffsalzen dem Boden durchschnittlich 31 kg Stickstoff pro Jahr und Hektar mehr entzogen

als zugeführt werden. Verf. führte unter Benutzung der Wagnerschen Zahlen einige Berechnungen getrennt für Lehm- und Sandboden durch und kommt unter Berücksichtigung der vermutlich durch Auswaschung verloren gegangenen Stickstoffmengen zu dem Resultat, daß die schädlichen Folgen des Raubbaues an Bodenstickstoff bei einseitiger Anwendung von Salpeter nur wenig später in die Erscheinung treten müssen, als bei völlig stickstofffreier Düngung. „Wer den Versuch wagen wollte, die altbewährten, langsam wirkenden Stickstoffquellen, Stallmist und Gründüngung, auf die Dauer durch Chilisalpeter zu ersetzen, der würde in absehbarer Zeit bei seinen Ernten Rückschläge bedenklicher Art erleben, die höchstens durch einen stetig steigenden Aufwand an Salpeter vermieden werden können.“ Vogel (Bromberg).

v. Seelhorst, Versuche über den Verbleib des Gründüngungsstickstoffs auf einem leichten Sandboden. III[1]). (Mitt. der deutsch. Landwirtsch.-Gesellsch. 1908. Stück 10.)

Die bisherige Behandlung der Versuchskästen war folgende:

Die Kästen 1—12 hatten in den Jahren 1904, 1905 und 1906 Gründüngungen erhalten, und zwar die Kästen 1—4 und 7—10 1904 2 Gründüngungen hintereinander und 1905 und 1906 je eine Gründüngung, die aber auf Kasten 1—2 und 7—8 bis zum Eintritt des Frostes stehen blieb; im Jahre 1906 war dies der 7. Dez. Die Kästen 5, 6, 11 und 12 hatten in jedem Jahre nur 1 Gründüngung erhalten, die in dem Jahre 1904 gleichzeitig mit der ersten Gründüngung der Kästen 1—4 und 7—10, in den Jahren 1905 und 1906 im Oktober untergebracht ist.

Kästen 4, 6, 10, 12 und 13 sind dann am 10. Okt. 1906 nach Düngung mit Thomasmehl und Kainit sofort mit Roggen bestellt.

Am 30. März 1907 sind die Lupinen von Kasten 1 und 2 tief, von 7 und 8 flach untergegraben und die Kästen 2 und 8 sodann mit Gerste bestellt worden. Die Kästen 1, 3, 5, 7, 9 und 11 hatten im Frühjahr eine Kali-Phosphatdüngung erhalten und waren Ende April mit Kartoffeln bepflanzt worden.

Bis zum 17. Aug. waren sowohl die Kartoffeln wie auch das Getreide geerntet. Nunmehr erhielten die Kästen 1—12 eine Kainitdüngung und hierauf eine Einsaat mit Gründunglupinen, welche aber so schlecht und ungleichmäßig aufgingen, daß am 3. Sept. eine Neusaat mit Erbsen vorgenommen wurde. Am 11. Okt. wurde die Gründüngung der Kästen 4, 6, 10 und 12 untergebracht und alsdann diese Kästen und Kasten 13 nach erfolgter Kali-Phosphatdüngung mit Roggen bestellt. An dem gleichen Tage (12. Okt.) ist die Gründüngung der Kästen 3, 5, 9 und 11 untergebracht worden. Am 4. Nov. wurden die Lupinen bezw. Erbsen der Kästen 1, 2, 7 und 8 ausgezogen und auf den Kästen liegen lassen.

Unter Berücksichtigung der im Jahre 1907 ermittelten Stickstoffwerte ergibt sich die folgende Stickstoffabrechnung für die Jahre 1904—1907:

Nach Abzug der im Drainwasser und den Ernten dem Boden entzogenen Stickstoffquantitäten von den in der Gründüngung zugeführten verbleibt für die einzelnen Kästen folgendes Mehr oder Minder an Stickstoff:

1) Siehe diese Zeitschrift. Bd. XX. p. 300.

I: + 3,2784	II: + 14,0822
III: — 12,8049	IV: — 1,8053
V: — 9,3738	VI: — 6,5198
VII: + 5,4124	VIII: + 13,9005
IX: — 10,0296	X: — 7,1567
XI: — 10,9096	XII: — 5,5642
XIV: — 20,5331	XIII: — 18,8877

„Aus diesen Zahlen geht deutlich die Ueberlegenheit der späten Unterbringung der Gründüngung gegenüber der frühen hervor. Die Ernten bei jener sind wesentlich höher gewesen als bei dieser, die N-Verluste durch das Drainwasser dagegen wesentlich niedriger.

Ob das auf diese Art berechnete Mehr an N der Kästen 1, 2, 7 und 8 gegenüber den anderen bezw. der Getreidekästen gegenüber den Kartoffelkästen wirklich vorhanden ist, können erst die folgenden Ernten, die ohne jede Gründüngung gewonnen werden sollen, erweisen Kommt dies mehr an N bei ihnen nicht zur Geltung, so müssen N-Verluste anderer Art, auf den Getreidekästen vor allen Dingen durch Denitrifikation, angenommen werden. Vogel (Bromberg).

Stoklasa, Beitrag zur Kenntnis der Stickstoffanreicherung des Bodens durch Bakterien und ihre Bedeutung für die Pflanzenernährnng. (Deutsche landw. Presse 1908. No. 25—27.)

Verf. sucht nachzuweisen, daß durch seine Untersuchungen über Bodenimpfung mit Alinit aus den Jahren 1897—1900 schon der Beweis für eine Erhöhung der stickstoffsammelnden Kraft und damit des Produktionsvermögens des Bodens durch Zufuhr stickstofffreier organischer Stoffe erbracht worden sei, daß daher die neueren Untersuchungen von A. Koch und seinen Mitarbeitern (s. diese Zeitschr. Bd. XXI. p. 435) nur seine früheren Ergebnisse bestätigt, nicht aber etwas Neues gebracht hätten. Hier befindet sich St. aber entschieden im Irrtum. Ihm war es bei seinen Studien nur darum zu tun, die Abhängigkeit der Stickstoffassimilattion des Alinitbacillus von der Menge der vorhandenen Kohlenstoffverbindungen aufzuklären. Wenn er bei dieser Gelegenheit auch die ertragssteigernde Wirkung des Kohlehydratzusatzes erkannt hat, so gab er doch dieser Wahrnehmung nicht die richtige Deutung. Der exakte experimentelle Nachweis, daß nach Ablauf der schädlichen Wirkungen, welche unersetzte organische Stoffe zunächst im Boden hervorbringen, durch diese Kohlenstoffverbindungen eine analytisch nachweisbare Bereicherung an Bodenstickstoff bewirkt wird, daß dieser „gesammelte" Stickstoff sich durch Nitrifikation rasch in Pflanzennahrung umwandelt und alsdann zu einer bemerkenswerten Ertragssteigerung der angebauten Früchte führt, ist erst durch die erwähnten Untersuchungen von A. Koch, teilweise auch durch Versuche von Schneider (s. diese Zeitschr. Bd. XVIII. p. 318), erbracht worden. In eigenartigem Gegensatz zu der Empfindlichkeit, mit welcher St. seine vermeintlichen Prioritätsansprüche in dieser Frage zu wahren sucht, steht der von ihm gleichzeitig proklamierte Satz: „Schon in den oben erwähnten Publikationen habe ich ausdrücklich gesagt, daß der Alinitbacillus große Mengen von aufnahmefähigen Kohlehydraten zur Verfügung haben muß, um den Stickstoff zu assimilieren, weil bei der Assimilation des elementaren Stickstoffs Kohlehydrate mit großer Energie zersetzt werden, wie ich dies neuestens mittels meiner Versuche mit Azotobacter nachgewiesen habe." Diesen „Nachweis" hat St. in den im Jahre 1906

erschienenen Berichten der Deutschen Botanischen Gesellschaft erbracht, nachdem schon 1902 Gerlach und Ref. in dieser Zeitschrift (Bd. IX. p. 817) die Abhängigkeit der Stickstoffbindung durch Azotobacter von der Menge der anwesenden organischen Nährstoffe klar erwiesen hatten.

Inzwischen scheint St. doch eingesehen zu haben, daß die Erfolge, welche er bei seinen Bodenimpfungen unter gleichzeitiger Düngung mit Kohlehydraten erzielt hat, nicht auf die Wirkung des Alinits, sondern in erster Linie auf die Begünstigung der wirklichen Stickstoffsammler, der Azotobacter-Arten, zurückzuführen sind. Trotzdem übt er an der Schulzeschen Arbeit (s. diese Zeitschr. Bd. VII. p. 929), welche von Behrens in den Kochschen Jahresberichten mit Recht als „ein sehr dankenswerter und klärender, durch die Art der Fragestellung wie durch die Methodik gleich mustergültiger Beitrag zur Alinitfrage" bezeichnet wird, eine Kritik, die einen großen Mangel an Unbefangenheit erkennen läßt. St. weiß ganz genau, daß Schulze die Kohlehydrate zum Teil kurz vor der Saat, zum größeren Teil sogar im Gießwasser zugeführt hat, die beobachtete schädliche Wirkung der Xylose-Dextrosezufuhr also durchaus erklärlich war. St. selbst hat ja wie viele andere beobachtet, daß eine gewisse Zeit verstrichen sein muß, bevor sich die zunächst schädliche Wirkung der organischen Stoffe in eine günstige umkehrt, es ist daher höchst merkwürdig, daß er es jetzt so darstellt, als ob die Schulzeschen Versuche wegen der — selbstverständlich (Ref.) — ausgebliebenen günstigen Wirkung des Zuckerzusatzes in ihrer gesamten Anordnung fehlerhaft waren. Die von Schulze beobachtete Depression der Ernteerträge ist durchaus nicht „bei allen heute feststehenden Resultaten objektiver Versuche einfach undenkbar", sondern sie war und ist für jeden nicht Voreingenommenen selbstverständlich.

St. beschreibt alsdann einige neuere Versuche, die erkennen lassen, daß er die in früherer Zeit den Alinitbakterien entgegengebrachten Sympathieen nunmehr den Azotobacter-Arten zuwendet. Die hier durch Bodenimpfung erzielten Erfolge sollen gern als wirklich neu anerkannt werden. Auf Torfböden in Zálš, welche von Natur arm an Azotobacter sind, konnten durch Impfung mit Azotobacter-Massenkulturen erhebliche Mehrerträge gewonnen werden. Bei Versuchen mit Hafer betrug beispielsweise die auf die Impfung zurückzuführende, in den Ernten zum Ausdruck gekommene Stickstoffassimilation 17,67 kg pro Hektar. „Es kann somit kein Zweifel bestehen, daß die Impfung mit Azotobacter immer dann ein besonders augenfälliges Resultat ergibt, wenn in dem betreffenden Versuchsboden nicht schon von vornherein dieser Mikrob in zureichender Menge angehäuft erscheint; ferner, wenn der in Betracht kommende Acker genügende Quantitäten Kalk enthält, um die organischen Säuren, welche durch die bakterielle Tätigkeit entstehen, neutralisieren zu können."

Verf. geht noch kurz auf seine Versuche über die Atmungsenergie der Bodenbakterien ein. „Die von den Bakterien in einer bestimmten Zeit bei einem bestimmten Feuchtigkeitsgehalte und einer fixen Temperatur pro Kilogramm Boden ausgeatmete Kohlendioxydmenge kann uns gewissermaßen als Indikator der biologischen Vorgänge im Leben dienen."

Durch Zufuhr von Traubenzucker zu tätigen Böden wird nicht nur eine analytisch feststellbare Zunahme an Gesamtstickstoff, sondern auch eine solche an löslicher Phosphorsäure und Kali erreicht. Es kommen Böden vor, wo Zuckerzusatz allein keine Stickstoffzunahme bewirkt,

während durch gleichzeitige Impfung mit Azotobacter eine solche zu erzielen ist. Mit einer Vorschrift über die Ausführung der Impfung größerer Flächen mit Azotobacter schließt die Mitteilung.

Vogel (Bromberg).

Westmann-Hiltner, Ueber die Steigerung der Ernteerträge, insbesondere der Seradella, durch Impfung mit Nitragin. (Jahrb. der Deutschen Landwirtsch.-Gesellsch. 1908. p. 281.)

Gelegentlich der Wanderversammlung der Deutschen Landwirtschafts-Gesellschaft zu Stuttgart im Juni 1908 machte Westmann vom Standpunkte des praktischen Landwirts aus wichtige Mitteilungen über Erfahrungen bei der Impfung von Hülsenfrüchten, insbesondere von Seradella. W. war bemüht, die Abneigung der Seradella gegen den ihrer Entwickelung im allgemeinen wenig günstigen schweren Boden durch Impfung mit Knöllchenbakterien zu überwinden. Im Jahre 1903 führte er die ersten, vorzüglich gelungenen Impfversuche aus. „Die geimpfte Seradella hatte sich in wunderschöner Weise mit reichem, weit verzweigtem Stengelsystem, Blatt- und Blütenbesatz entwickelt und eine Höhe von 90—95 cm erreicht; die nicht geimpfte war krank und kümmerlich, arm an Blättern und hatte nur eine Höhe von 20—30 cm erreicht. Nach der Roggenernte fristete die nicht geimpfte Saat ein kümmerliches Dasein, wogegen die geimpfte sich bald aufs neue entwickelte. An grüner oberirdischer Masse wurden 120 dz auf 1 ha festgestellt, welche so viel Stickstoff aus der Luft gesammelt hatten, wie einer Düngung von rund 800 kg Chilesalpeter für 1 ha entspricht."

In den folgenden Jahren waren die Erfolge der Impfung recht verschieden, selbst bei Versuchen auf benachbarten Flächen und unter sonst gleichen Bedingungen. Da traten im Jahre 1907 in etwa 25 Wirtschaften Sachsens bei ausgedehnten Impfungen zu Seradella wieder ganz hervorragende Erfolge ein, welche die kühnsten Erwartungen übertrafen und zu begeisterten Berichten der Versuchsansteller Veranlassung gaben. Die Stickstofferntе wurde bei manchen Versuchen durch die Impfung um das 10-fache erhöht. W. gibt der Ueberzeugnng Ausdruck, daß sich die Reinkulturimpfung trotz mancher entgegenstehender Schwierigkeiten in der Landwirtschaft einen Platz als nützliche Kulturmaßregel erobern wird.

Für die Westmannschen Beobachtungen gibt Hiltner in seinen sich anschließenden Ausführungen einige Erklärungen, und knüpft hieran eine eingehende Erörterung der Ursachen, welche für die noch bestehende Unsicherheit des Impfverfahrens verantwortlich zu machen sind.

Von Einfluß auf die Impfwirkung sind in erster Linie die Witterungsverhältnisse und zwar sowohl diejenigen, welche während der Ausführung der Impfung als auch die, welche während der Entwickelung der Pflanzen zur Geltung gelangen. Insbesondere sind hier die Feuchtigkeitsverhältnisse des Bodens von größter Bedeutung. Die Impfung gewährt einen gewissen Schutz gegen die schädlichen Wirkungen großer Trockenheit, man wird aber nicht von ihr verlangen dürfen, daß sie über Dürreperioden hinweghilft, in welchen selbst die Keimung der Samen nicht erfolgen kann oder Schaden leidet. An mehreren Beispielen aus der Praxis erweist H. die große Bedeutung der Feuchtigkeitsverhältnisse des Bodens für den Erfolg der Impfung.

Von nicht minder großem Einfluß auf die Impfwirkung ist der Gehalt des Bodens an Nährstoffen, insbesondere an Stickstoff und

Kalk. Verf. kommt bei dieser Gelegenheit auf die früher von ihm dargelegten Anschauungen über die Bedeutung der in der Rhizosphäre sich abspielenden Vorgänge zurück. Er weist darauf hin, daß die Seradella gerade auf den besseren, namentlich den rotkleefähigen Böden sehr oft im ersten Jahre trotz Impfung nicht recht gedeihen will, daß sie aber bei wiederholtem Anbau in den folgenden Jahren sich dem Boden immer besser anpaßt und es dann zu ausgezeichneter Entwickelung bringt. Es ist wahrscheinlich der hohe Salpetergehalt solcher Böden, welcher zunächst die freudige Entwickelung der Seradella beeinträchtigt. Diese Verhältnisse verdienen in der Praxis Beachtung bei Darreichung von Salpeterkopfdüngungen an die Deckfrucht, in welche Seradella eingesät ist.

Bei Besprechung der Kalkempfindlichkeit mancher Hülsenfrüche, besonders der Lupinen, erwähnt H. seine neuen wichtigen Beobachtungen, nach welchen die Abneigung dieser Pflanzen selbst gegen einen sehr hohen Kalkgehalt des Bodens durch mehrmaliges Bespritzen mit $^1/_2$- bis 1-proz. Eisenvitriollösung überwunden werden kann. Die Impfung ist dagegen zu einer solchen Leistung nicht befähigt.

Des weiteren kann der Impferfolg erheblich beeinflußt werden durch die Art des Bodenhumus. H. geht hier näher auf die verschiedene Beschaffenheit der süddeutschen und norddeutschen Moore ein, welche es erkärt, daß auf ersteren die Impfung gewöhnlich erfolglos bleibt, während sie auf letzteren beträchtliche Ertragssteigerungen bewirkt. In den oberen Schichten der süddeutschen Moorböden kommen Knöllchenbakterien in ungeheueren Mengen vor, weil sie in den noch wenig zersetzten Pflanzenteilen ihre Lebensbedingungen finden, während in der stark zersetzten oberen Schicht der norddeutschen Moore zwar die Knöllchenbakterien nicht abgetötet wurden, aber ihre Anpassungsfähigkeit an Leguminosen schon in weit höherem Grade verloren haben.

Endlich ist wegen der eigenartigen Anpassungsverhältnisse der Knöllchenbakterien die Art der Vorfrucht beim Leguminosenbau von größter Bedeutung. Es gehören hierher die neueren Beobachtungen über die teils nachteiligen, teils auch fördernden Wirkungen der voraufgegangenen Hülsenfrucht auf die nachfolgende. H. verfolgte die häufiger beobachtete Unverträglichkeit von Rotklee und Seradella etwas näher und konnte feststellen, „daß die Rotkleebakterien schädlich auf die Entwickelung der Seradellapflanzen einwirken, und zwar, wie die mikroskopische Untersuchung ergab, weil diese Bakterien zwar von den Seradellawurzeln angelockt werden und dieselben dicht besetzen, aber nicht in sie eindringen, sondern nur etwa nachfolgenden oder an sich im Boden in geringer Zahl enthaltenen Seradellabakterien gewissermaßen den Weg versperren, indem sie, wie es scheint, die Anlockungsstoffe der Wurzeln neutralisieren. Selbst durch Impfung der Seradella vor der Aussaat wird man daher in Fällen, wo der Seradella Rotklee oder eine andere Kleeart vorausgegangen ist, nicht den gewünschten vollständigen Erfolg haben.“

An der Verbesserung des Impfverfahrens und der Impfbakterien wird von H. ebenfalls dauernd weiter gearbeitet. So hat es sich beispielsweise neuerdings herausgestellt, daß man unter Umständen bei dem Bestreben, besonders virulente Bakterien zu gewinnen, leicht deren Stickstoffsammlungsvermögen vermindern kann, und zwar dadurch, daß die verschiedenen Generationen der Pflanzen immer in derselben Erde gezogen werden, wodurch diese Erde immer stickstoffreicher, damit die Gelegenheit für die Bakterien, Stickstoff zu sammeln, aber immer geringer wird. Bei

der Fortzüchtung der Knöllchenbakterien auf künstlichen Nährböden ist eine Abnahme der Virulenz im allgemeinen nicht zu befürchten. Die Beigabe von Nährstoffen (Pepton und Traubenzucker) hält H. auf Grund seiner neueren Versuche für unnötig auf Moorboden, sowie auf allen stark humosen Böden. Auch auf mineralischen Böden brachte die Zugabe von Nährstoffen zuweilen keine Erfolge, dagegen war das Vorhandensein von kohlensaurem Kalk und anderen Kalkverbindungen von Vorteil.

Aus alledem ergibt sich, „wie von solchen anscheinenden Kleinigkeiten der Erfolg ganz wesentlich abhängig sein kann und welche zum Teil recht schwierige Fragen an jeden herantreten, der sich mit dem Nitragin, namentlich mit dessen dauernder Herstellung für alle Leguminosenarten und -varietäten befassen will“. Vogel (Bromberg).

Vageler, Der Gehalt der Atmosphäre an gebundenem Stickstoff. (Fühlings landw. Ztg. 1908. p. 140.)

Verf. zieht aus den an verschiedenen Orten der Erde ausgeführten Untersuchungen über die mit den atmosphärischen Niederschlägen auf den Boden gelangenden Stickstoffmengen die folgenden Schlüsse:

Der Ammoniakgehalt der Atmosphäre, welcher den größten Bruchteil am Gesamtgehalt an gebundenem N bildet, entstammt, wenn nicht ganz, so doch zum größten Teile dem Erdboden, und seine Höhe ist wesentlich abhängig von der Tätigkeit des Menschen, stets von rein lokalen Verhältnissen. Am gleichen Orte werden seine Schwankungen durch Temperaturschwankungen mitbedingt.

In zurücktretendem Grade gilt dies auch für den Salpetersäurestickstoff der Luft. In der Hauptsache verdankt dieser seine Entstehung jedoch elektrischen Vorgängen in der Atmosphäre, und steigt dementsprechend seine Menge mit deren Zunahme, also am gleichen Orte in den Sommermonaten, für die Erde im ganzen betrachtet in den heißeren Klimaten mit erhöhter Gewitterneigung.

Die Stickstoffmengen, welche mit den Niederschlägen aus der Luft auf den Boden gelangen, sind recht gering, nach Ansicht des Verf. vielleicht aber gerade für ärmere Böden von großer Bedeutung, da nach den bisherigen Erfahrungen die Tätigkeit der stickstoffbindenden Bodenorganismen durch kleine Mengen gebundenen Stickstoffs angeregt und gefördert wird. Vogel (Bromberg).

Lemmermann und **Blanck**, Der weiße Senf in seiner Beziehung zur Stickstoffassimilation. (Die landw. Versuchs-Stationen. Bd. LXIX. 1908. p. 145.)

Obwohl der weiße Senf an sich nicht imstande ist, den elementaren Stickstoff der Luft aufzunehmen, und es auch keineswegs feststeht, daß bei der Zersetzung seiner grünen Pflanzenmasse Stoffe (Senföl) entstehen, welche die bakteriellen Kräfte des Boden günstig beeinflussen, so scheinen doch manche Beobachtungen für eine günstige Wirkung von Senf auf die Stickstoffassimilation zu sprechen. Da sich der Senf mit größter Energie den im Boden enthaltenen Salpeterstickstoff aneignet, so wird der Boden unter seinem Einfluß an löslichem Stickstoff verarmen, und es wäre denkbar, daß dadurch für die stickstoffbindenden Organismen gute Entwickelungsbedingungen geschaffen werden. Von dem Bestehen derartiger Beziehungen suchten sich Verff. durch Vegetationsversuche zu überzeugen, bei welchen einerseits Senf, andererseits zum Vergleiche

Gerste und Erbsen zum wiederholten Anbau in Gefäßen kamen. Nach der letzten Ernte wurde die stickstoffbindende Energie der einzelnen Böden genauer ermittelt. Verff. verfuhren hierbei so, daß größere Mengen (4 kg) der betreffenden, entsprechend vorbereiteten und auf einen geeigneten Wassergehalt (zunächst 14, dann 12 Proz.) gebrachten Erden teils ohne Zuckerzusatz, teils nach Zugabe von 2 Proz. Rohrzucker in Glasgefäßen längere Zeit (46 und 92 Tage) aufbewahrt, und nach Ablauf dieser Zeiten auf ihren Gesamtstickstoffgehalt untersucht wurden. Es ergaben sich die folgenden Werte:

In je 100 g Trockensubstanz waren vorhanden:

	Boden ohne Zuckerzusatz:		
	Gerstenboden	Senfboden	Erbsenboden
	mg N	mg N	mg N
Zu Beginn	52,086	50,794	57,480
Nach 46 Tagen	53,470	49,728	51,626
„ 92 „	50,712	48,818	53,626

	Boden mit Zuckerzusatz:		
	Gerstenboden	Senfboden	Erbsenboden
	mg N	mg N	mg N
Zu Beginn	52,086	50,794	57.480
Nach 46 Tagen	54,978	52,960	68,028
„ 92 „	57,598	57,850	68,552

Die gewonnenen Versuchsergebnisse sprechen also nicht dafür, daß der weiße Senf die Stickstoffassimilation im Boden in besonderem Maße zu fördern imstande ist. Dagegen zeigte der mit Erbsen bestanden gewesene Boden eine gewisse Ueberlegenheit hinsichtlich der Stickstoffbindung gegenüber den übrigen Böden. Vogel (Bromberg).

Loew and **Aso**, On changes of availability of nitrogen in soils. II. (Bull. of the College of Agriculture. Tokyo Imp. Univ. Vol. VII. No. 5.)

Verff. setzten ihre Studien über die Existenz bakteriolytischer Enzyme im Boden fort, welche nach dem Absterben der an den Stickstoffumsetzungen beteiligten Mikroorganismen den in deren Körpersubstanz festgelegten Stickstoff für die höheren Pflanzen erschließen. Sie verwendeten bei diesen neuen Studien eine Anzahl der gewöhnlichen Bodenbakterien und konnten in der Tat erweisen, daß diese Mikroben beim Wachstum in bestimmten Nährlösungen Enzyme produzieren. Wahrscheinlich treten solche Enzyme auch bei der Nutzbarmachung des durch Azotobacter gebundenen Stickstoffs in Aktion.

Den Chemismus bei der Assimilation des Stickstoffs durch Azotobacter erklären sich die Verff. so, daß zunächst nach der Formel

$$N_2 + 2\,H_2O = NH_4NO_2$$

Ammoniumnitrit gebildet, und dessen Nitritstickstoff dann rasch ebenfalls zu Ammoniak reduziert wird. Dieses ist dann das Ausgangsmaterial für die Eiweißbildung. Vogel (Bromberg).

Vageler, Die Bindung des atmosphärischen Stickstoffs in Natur und Technik. 132 p. Braunschweig (Friedr. Vieweg u. Sohn) 1908.

Das V.sche Buch, welches als Heft 26 der unter dem Titel „Die Wissenschaft" herausgegebenen Sammlung naturwissenschaftlicher und

mathematischer Monographieen erschienen ist, unterscheidet sich von ähnlichen Werken neueren Datums dadurch, daß die biologische Seite der behandelten Frage gegenüber der rein technischen eine starke Betonung erfahren hat. Immerhin kommt aber auch die letztere zu ihrem Recht, die Nutzbarmachung des Luftstickstoffs mit Hilfe der Elektrizität, die Kalksalpeter- und Kalkstickstofferzeugung, werden zwar in knapper, aber doch die wichtigsten Angaben bringender Form dargestellt.

Nach einleitenden Worten über die Stickstoffernährung der grünen Gewächse im allgemeinen geht Verf. näher auf die jetzt zur Verfügung stehenden Hauptquellen des gebundenen Stickstoffs, Salpeter, Ammoniak und Guano, ein. In übersichtlicher, den modernen Anschauungen Rechnung tragender Weise wird das Wesentlichste über die Bedeutung dieser Stickstoffvorräte mitgeteilt, und alsdann kurz auf diejenigen Vorgänge hingewiesen, welche zu einer Bindung von Stickstoff ohne Mitwirkung von Organismen führen. Hierbei fanden unter Benutzung eines wertvollen Zahlenmaterials insbesondere die in den Niederschlägen dem Boden zuwandernden Stickstoffmengen Berücksichtigung.

Bei Besprechung der Bindung des atmosphärischen Stickstoffs durch frei lebende Bakterien bringt Verf. eine vollständige Uebersicht über die einschlägige Literatur. Er beschänkt sich hierbei nicht auf kurze Hinweise, sondern teilt mit erfreulicher Gründlichkeit das Wesentlichste aus den vorliegenden Forschungsergebnissen, insbesondere ein reiches und beweiskräftiges Zahlenmaterial mit. Im einzelnen soll an dieser Stelle nicht näher auf die ausführlichen, durch Reproduktionen der Originalbildungen ergänzten Darlegungen Verf.s eingegangen werden. Sie bieten jedem, der sich auf den behandelten Gebieten orientieren will, wertvolle Unterlagen.

Bei Würdigung aller jener Tatsachen, welche für eine im Ackerboden sich vollziehende Stickstoffsammlung sprechen, kommt Verf. zu folgender Auffassung: „An der Tatsache der Stickstoffassimilation durch Bakterien im Boden ist nach allen vorliegenden Daten nicht mehr zu zweifeln, wenigstens in qualitativer Beziehung. Wesentlich trauriger steht es freilich um unsere Kenntnis, wenn wir die quantitative Seite des Problems in Rechnung ziehen. Die Bodenanalyse läßt hier im Stiche. Wohl handelt es sich für größere Flächen um Stickstoffmengen, welche sich der Analyse nicht entziehen können. Auf die nach dem Stande der Analysentechnik erforderlichen und höchstens anwendbaren Substanzmengen übertragen, genügen aber diese Mengen nicht, um nachweisbar zu sein, da sie immer noch in den Bereich der Fehlergrenzen fallen. Hinzu kommt, daß man unter natürlichen Verhältnissen nie genau weiß, welchen Teil des etwa mehr gefundenen Stickstoffs man auf Rechnung der Bakterientätigkeit setzen darf, und welcher etwa durch Absorption von Ammoniak und durch Niederschläge in den Boden gelangt ist."

An diese Erörterungen schließt sich eine kurze Würdigung der Stickstoffbindung durch andere (von Clostridium und Azotobacter verschiedene) frei lebende Organismen an. Verf. bespricht hier das über die Stickstoffassimilation durch Pilze, Algen und höhere grüne Gewächse Bekannte, gedenkt bei dieser Gelegenheit auch der „Albumen generators" von Jamieson und schließt diese Ausführungen mit folgenden Worten:

„Vielmehr ist durch sie (die Jamiesonschen Untersuchungen) zurzeit die Anschauung nicht erschüttert, daß den höheren grünen Pflanzen die Fähigkeit, selbständig atmosphärischen Stickstoff zu assimilieren, wenn überhaupt, dann in einem sich heute noch der Auffindung

entziehenden Grade zukommt, wie es auch bei den chlorphyllführenden Algen der Fall ist. Kaum irgendwie belangreich ist diese Fähigkeit bei Cyanophyceen und Schimmelpilzen, und nur verschiedene Bakteriengruppen besitzen sie in einer Weise, daß sie für die wild lebenden Gewächse wohl sicher von großer Bedeutung ist, während man über den Wert dieser Fähigkeit für die Kultur der Nutzgewächse unter den Bedingungen des modernen Ackerbaues noch sehr geteilter Ansicht sein kann, diese Fähigkeit jedenfalls für die Stickstoffbilanz eines Betriebes noch kaum in Rechnung gebracht werden darf."

Es folgt eine durch Vollständigkeit und Klarheit der Darstellung sich auszeichnende Besprechung der Stickstoffbindung durch Bakterien und sonstige Mikroorganismen im Verein (Symbiose) mit grünen Pflanzen, und daran anschließend eine Würdigung des bei der Bodenimpfung mit Knöllchenbakterien bisher Erreichten. Mit Betrachtungen über die Bedeutung der Leguminosen als Stickstoffsammler in der Praxis schließt Verf. den Hauptteil seiner Ausführungen und geht, wie anfangs erwähnt, noch in Kürze auf die Nutzbarmachung des Luftstickstoffs in technischen Betrieben mit Hilfe der Elektrizität ein.

Für jeden, der sich über die einschlägigen Fragen unterrichten will, wird die V.sche Arbeit dadurch wertvoll, daß sie nicht nur in resumierender Zusammenfassung die erwiesenen Tatsachen mitteilt, sondern durch die ausführliche Würdigung der in Betracht kommenden Literatur ein gründliches Kennenlernen der betreffenden Wissensgebiete ermöglicht.

Vogel (Bromberg).

Wagner, J. Ph., Die Nitrifikation des Torfes. (Deutsche landw. Presse. 1908. No. 55.)

Verf. erörtert kurz die Herstellung von Salpeter durch Nitrifikation des Torfes nach dem Verfahren von Em. Bazin.

Der Torf wird zunächst durch Kalkzusatz alkalisiert und alsdann in parallel zueinander stehenden, 1,50 m hohen und möglichst schmalen Feimen aufgestellt. Diese werden mit „passenden Bakterienkulturen" besät und mit Ammoniaksalzlösungen übergossen. Die ablaufende Flüssigkeit findet wiederholt zur Durchfeuchtung der Torfsilos Verwendung. Im Anfang geht die Nitrifikation nur langsam vonstatten. Nach etwa 3 Wochen beschleunigt sich ihr Verlauf, und es werden dann in regelmäßigem Fortschreiten im Verlauf von 24 Stunden 390—400 g Salpeter pro Kubikmeter erzeugt. Wenn ein Konzentrationsgrad von 18—20 Proz. Calciumnitrat erreicht ist, so hört die weitere nitrifizierende Tätigkeit in den Torffeimen auf, und diese sind durch neue zu ersetzen. Der mit Salpeter angereicherte Torf kann nach vorherigem Trocknen und Pulverisieren direkt als Dünger verwendet oder auch durch Auswaschen von seinem Nitratgehalt befreit werden.

Nach dem Verfahren können auch städtische Abwässer, wie überhaupt alle fäulnisfähigen Abfallstoffe nach erfolgter Ammonisierung ihres Stickstoffs zur Salpetergewinnung herangezogen werden.

Vogel (Bromberg).

Popp, Die Wirkung der organischen Stickstoffdüngemittel im Vergleich zum Salpeter. (Die landw. Versuchsstationen. Bd. LXVIII. 1908. p. 253.)

Verf. hat es unternommen, die bislang veröffentlichten Versuche und

die neueren Forschungen über die Düngewirkung der organischen stickstoffhaltigen Düngemittel im Zusammenhang mitzuteilen.

Zunächst berichtet er über Umsetzungsversuche im Laboratorium. Geringe Mengen von Blutmehl, Hornmehl und „aufgeschlossenem organischem Stickstoffdünger“ wurden mit größeren Quantitäten Erde vermischt, die Mischung auf einen Wassergehalt von 20—25 Proz. gebracht und bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Nach 2, 6 und 12 Wochen erfolgte die quantitative Bestimmung des gebildeten Ammoniak- und Salpetersäurestickstoffs. Wie zu erwarten war, entstand zunächst Ammoniak, dessen Menge allerdings niemals 14 Proz. der angewandten Stickstoffmenge überstieg, und aus diesem allmählich Salpetersäure. Eine vollständige Umwandlung des organischen Stickstoffs in Salpeterstickstoff war in keinem Fall eingetreten. Im günstigsten Falle sind von je 100 Teilen angewandten Stickstoffs 72 Teile in Nitratstickstoff übergeführt worden, und zwar beim Blutmehl. Vom Hornmehlstickstoff waren etwa 57 Teile und vom organischen Stickstoffdünger nur 34 Teile umgewandelt. Gleichzeitige Zufuhr von Kalk war wirkungslos.

Diese Laboratoriumsergebnisse wurden durch umfangreiche Vegetationsversuche erweitert, für deren Durchführung die von Paul Wagner aufgestellten Grundsätze maßgebend waren. Die Versuche wurden teilweise bis zu 6 Jahren in dem gleichen Boden und mit 17 verschiedenen Stickstoffdüngern ausgeführt. Das Gesamtergebnis der zahlreichen, in verschiedener Weise variierten Versuche läßt sich folgendermaßen zusammenfassen:

Der Wirkungswert der einzelnen organischen Stickstoffdüngemittel schwankte bei verschiedenen Früchten zum Teil sehr erheblich. Es ist nicht möglich, auf Grund einer einzelnen Versuchsreihe oder weniger Versuche allgemeingültige Schlüsse auf die Wirkungsgröße der organischen Stickstoffdüngemittel zu ziehen. Will man trotzdem Vergleichszahlen für die einzelnen Düngemittel untereinander angeben, so kann es sich nur um runde Zahlen handeln, welche ungefähr das Verhältnis zwischen der Wirkung des betreffenden Düngemittels und der des Salpeters angeben. In diesem Sinne hat Verf. eine Reihe aufgestellt, welche mit einem Wirkungswert des Blutmehls = 70 beginnt und mit Ledermehl = 10 schließt.

Mit Angaben über den Geldwert der geprüften organischen Düngestoffe schließt die ausführliche Darstellung. Vogel (Bromberg).

Haselhoff, Untersuchungen über die bei der Zersetzung des Kalkstickstoffes entstehenden gasförmigen Verbindungen und ihre Einwirkung auf das Pflanzenwachstum. (Die landw. Versuchsstationen. Bd. LXVIII. p. 189.)

Verf. stellte fest, daß bei der Zersetzung von Kalkstickstoff in feuchtem Boden gasförmiges Ammoniak, Acetylen, Phosphorwasserstoff und Spuren von Schwefelwasserstoff, dagegen keine gasförmigen Cyanverbindungen entstehen. Diese Gase wurden im einzelnen auf ihr Verhalten zu keimenden Samen geprüft. Es ergab sich, daß freies Ammoniak schon in Mengen, wie sie bei der Zersetzung von 10 g Kalkstickstoff entstehen, außerordentlich schädlich auf die Keimung einwirkt. Da aber bei der Kalkstickstoffzersetzung im Boden diese Ammoniakmenge sich nur allmählich bildet, bei den Versuchen dagegen auf einmal zur Einwirkung kam, so kann nicht geschlossen werden, daß das bei der Zersetzung des Kalkstickstoffes im Boden entstehende Ammoniakgas die

Ursache seiner keimungshemmenden Wirkung sein muß. Acetylen hat die Keimung nicht nachteilig beeinflußt, dagegen vernichtete Phosphorwasserstoff die Keimkraft von Buchweizen und Senf vollständig, schädigte Klee sehr stark und war auch für Weizen von nachteiliger Wirkung. Auch Schwefelwasserstoff beeinträchtigte die Keimkraft und Keimungsenergie der Samen in erheblichem Maße. Ein Gemisch der bei der Kalkstickstoffzersetzung entstehenden Gase übte eine schädliche Wirkung auf die Keimfähigkeit von Klee- und Senfsamen aus, Weizen- und Buchweizenkörner wurden nicht geschädigt. „Aus allen diesen Versuchen kann geschlossen werden, daß die bei der Zersetzung des Kalkstickstoffes durch die Einwirkung von Feuchtigkeit entstehenden Gase auf die Keimung der Samen störend wirken können, und daß es aller Wahrscheinlichkeit nach freies Ammoniak und vielleicht auch Phosphorwasserstoff sind, welche diese nachteilige Wirkung verursachen.“

Zahlreiche weitere Versuche mit Boden- und Wasserkulturen bestätigten diese Befunde in allen wesentlichen Punkten.

Vogel (Bromberg).

Perotti, R., Se la scomposizione della calciocianamide possa avvenire per mezzo dei bacteri. (Archivio di Farmacologia sperimentale e Scienze affini. Vol. V. 1906. p. 385.)

Im Anschluß und zur Vervollständigung der im Jahre 1905 veröffentlichten Untersuchungen des Ref. über die Zersetzung des Kalkstickstoffes prüfte Verf. zunächst genauer den Einfluß, den das Erhitzen einer Kalkstickstofflösung auf den darin vorhandenen Stickstoff ausübt. Mittels ammoniakalischen Silbernitrats wurde der Cyanamidstickstoff, und durch Destillation mit Magnesia usta das Ammoniak bestimmt. Sterilisation im gespannten Dampf bei 120° ließ schon nach der ersten, 10 Minuten dauernden Behandlung nur noch geringe Spuren Cyanamid zurück, aber erst nach der dritten Erhitzung war fast sämtlicher Stickstoff in Ammoniak übergeführt. Je einstündige Erhitzung im strömenden Dampf verminderte den Cyanamidgehalt nach der ersten Stunde auf die Hälfte, nach der zweiten auf ein Fünftel, nach der dritten auf Spuren, während der Ammoniakgehalt infolge Verflüchtigung keine Zunahme zeigte. Pasteurisieren bei 55—60° hatte nur eine relativ geringe Abnahme des Cyanamidstickstoffes zur Folge. Unter Verwendung der pasteurisierten Kalkstickstofflösung, der die vom Ref. für diese Zwecke vorgeschlagenen Nährstoffe im sterilisierten Zustande hinzugefügt wurden, kamen sodann Umsetzungsversuche zur Ausführung, in denen gleichzeitig das Verschwinden des Cyanamids sowie die Zunahme an Ammoniak in der angegebenen Weise festgestellt wurde. Zur Impfung der Lösungen diente 1 Proz. Erde. Die in den geimpften Kolben zunächst kräftig einsetzende Cyanamidabnahme und Ammoniakzunahme kam ziemlich bald zum Stillstand, erneuter Traubenzuckerzusatz brachte den Prozeß wieder in Gang. Verf. meint, daß durch diese Versuche erwiesen sei, daß das Calciumcyanamid direkt von den Bakterien angegriffen werde. (Nach den seither veröffentlichten Befunden des Ref. ist das nicht der Fall; die referierten Beobachtungen Perottis lassen sehr deutlich die Notwendigkeit der aus dem Traubenzucker u. a. entstehenden Kohlensäure für die der Bakterienwirkung voraufgehende Verseifung des Cyanamids erkennen.) Die Umsetzung blieb jedoch unvollständig, was ebenso wie eine geringe Verminderung des Cyanamids in den sterilen Kontrollkolben auf eine partielle Dicyandiamidbildung zurückgeführt wird,

der Verf. eine, wie sich seither herausgestellt hat, entschieden allzugroße Bedeutung beimißt. Aus den geimpften Kalkstickstofflösungen wurden Bakterienarten isoliert, die sich zum Teil als identisch mit dem vom Ref. bei analogen Versuchen gefundenen herausstellten. Ferner wird berichtet, daß Kalkstickstoff im Gemisch mit Torf einer sehr raschen Umbildung unterliegt, während dies bei Verwendung von Erde nur in relativ geringem Grade der Fall ist. Auf die Zahl der auf Albumoseagar (Nährstoff Heyden) sich entwickelnden Keime wirkte die Zugabe von Kalkstickstoff zur Erde bezw. zum Torf deutlich deprimierend ein. Verf. betont am Schlusse seiner Arbeit mit Recht, daß die in der ersten Arbeit des Ref. für das Verhalten der Reinkulturen ermittelten Zahlen nicht als einwandsfrei angesehen werden können, da in den fünfmal sterilisierten Lösungen sicher nur noch sehr geringe Mengen Cyanamid vorhanden waren. Durch die seither erschienenen Fortsetzungen jener Arbeit hat dieser Einwand inzwischen seine Erledigung gefunden.

Löhnis (Leipzig).

Ulpiani, C., Sulla pretesa fermentazione ammoniacale della cianamide. (S.-A. aus Gazetta chimica italiana. Vol. XXXVIII. parte II. 61 p.)

In der Einleitung zu seiner Arbeit bringt Verf. eine ausführliche kritische Erörterung der Kalkstickstoffliteratur, speziell der ersten (1905 publizierten) Arbeit des Referenten. Die verschiedenen Bedenken, die dabei vorgebracht werden, wurden seitens des Ref. bereits in dem Nachtrag zu seiner III. Mitteilung über Kalkstickstoffzersetzung[1]) besprochen und auf das richtige Maß zurückgeführt. Der Vollständigkeit halber ist in dieser Richtung hier nur noch nachzutragen, daß Verf. außerdem der Vermutung Raum gibt, seitens des Ref. sei mit stark zersetztem Kalkstickstoff gearbeitet worden. Verf. konstatierte nämlich, daß 2 Jahre lang in Säcken an freier Luft aufbewahrtes Material einer weitgehenden Selbstzersetzung anheimgefallen war. (Säcke sind zweifellos wenig geeignet zur Aufbewahrung von zu Versuchszwecken bestimmten Chemikalien, im hiesigen Laboratorium wenigstens finden sie hierzu keine Verwendung. Daß das 1903 von mir aus der Fabrik bezogene und sofort zum Versuch verwendete Material sich unmöglich in solchem Zustande befunden haben konnte, wie das vom Verf. untersuchte Präparat, hätte sich dieser aber wohl auch selbst sagen können. Ref.)

Die vom Verf. durchgeführten Versuche erstreckten sich zunächst darauf, erneut festzustellen, ob das Cyanamid als solches von Bakterien angegriffen werden kann oder nicht. Er arbeitete teils mit rohem Kalkstickstoff bezw. mit unreinem Cyanamid, das mittels Kohlensäurebehandlung daraus gewonnen war, teils mit gereinigtem Material, einigen Kolben wurden Bakteriennährstoffe, einigen Chloroform hinzugefügt[2]). In Uebereinstimmung mit seinen früheren Erfahrungen konnte er erneut feststellen, daß das reine Cyanamid in den Lösungen zwar im Laufe der Zeit eine allmähliche Verringerung erfuhr, dabei war aber von einem

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XXII. p. 280.

2) In der Besprechung der ersten Versuchsreihe findet sich ein sehr sinnstörender Druckfehler, auf den hier hingewiesen sei. Es wird dort im Text gesagt, daß die mit A bezeichneten Kolben Calciumcyanamid, die mit B bezeichneten Cyanamid enthielten, in Wirklichkeit verhält es sich aber gerade umgekehrt, wie aus späteren Ausführungen klar hervorgeht.

Einfluß der Bakterien nichts zu bemerken. Sehr befördert wurde dagegen die Cyanamidzersetzung durch die Anwesenheit des Kalkes und der anderen im rohen Kalkstickstoff enthaltenen Nebenprodukte; waren sie zugegen, dann übten auch die Bakterien einen fördernden Einfluß aus. Desgleichen wirkte Erde bei Gegenwart von Choroform zersetzend auf das Cyanamid ein. Die hierbei in Frage kommenden Verhältnisse sollen in einer späteren Arbeit eingehend behandelt werden.

Um die bei der Kalkstickstoffzersetzung auftretenden Zwischenprodukte zu erhalten, wurde Kalkstickstoff mit Wasser oder mit Alkohol extrahiert bezw. Cyanamid mit Basen oder mit Säuren bis zur vollständigen Zersetzung erhitzt. In dem (teilweise zersetzten) Kalkstickstoff wurden nachgewiesen: Cyanamid, Dicyandiamid, Amidodicyansäure, Dicyandiamidin, Melamin, Ammelin und Harnstoff. Cyansäure wurde vermißt (bekanntlich wird cyansaures Ammoniak durch kochendes Wasser sofort in Harnstoff umgelagert. Ref.). Die Stickstoffbestimmungsmethode nach Dumas gab für dieses Präparat niedrigere Werte als die nach Kjeldahl; nach Verf. Ansicht erscheint die vergleichsweise Benutzung beider Methoden geeignet, um rasch feststellen zu können, ob man es mit zersetzten bezw. mit unzersetztem Material zu tun hat. In der andauernd erhitzten Cyanamidlösung wurde bei Zugabe von Ammoniak oder MgO eine hohe Dicyandiamidausbeute erzielt, CaO-Beigabe lieferte sowohl Dicyandiamid wie Harnstoff, KOH oder Säuren gaben Harnstoff und Ammoniak. Danach schließt Verf., daß auch im Boden die Cyanamidzersetzung rasch über Harnstoff, langsam über Dicyandiamid zu Ammoniak führen könne. Vom Dicyandiamid nimmt er einerseits an, daß es entweder über Amidodicyansäure in Biuret oder über Dicyandiamidin in Guanidin übergehen und so der Ammoniakbildung zugeführt werden könne, andererseits tritt er der Anschauung Perottis bei, daß das Dicyandiamid zunächst von den Bodenorganismen assimiliert und auf diesem Umwege mineralisiert werden könne. (Wie kürzlich dargelegt wurde, hat sich das Dicyandiamidin ebenso wie das Dicyandiamid als für Bakterien unangreifbar erwiesen; die von Ulpiani adoptierten Angaben Perottis sind irrig. Ref.). Weil aus dem Cyandiamid zunächst Harnstoff entsteht, meint Verf., daß es sich um ein dem Harnstickstoff gleichwertiges Material handele. Wie vom Ref. hervorgehoben wurde, besteht dieser unter Außerachtlassung der hier in Betracht kommenden bakteriologischen Befunde gezogene Schluß gleichfalls nicht zu Recht.

Löhnis (Leipzig).

Löwenherz, Beschleunigung des Wachstums der Gerste durch Elektrizität. [Vorläufige Mitteilung.] (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XVIII. 1908. Heft 1. p. 28.)

Verf. teilt mit, es sei ihm gelungen, die Keimung der Gerste durch Elektrizität auch bei Versuchen im Freien zu beschleunigen und verweist auf seine diesbezügliche frühere Publikation (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XV. Heft 3. p. 205). Von Bedeutung ist die Anwendung einer bestimmten Stromstärke, da bei einer Erhöhung eine schädliche Wirkung, bei einer Erniedrigung keine erhebliche Beschleunigung eintritt.

Schaffnit (Bromberg).

Patouillard, N., Champignons nouveaux ou peu connus. (Bull. trimest. Soc. mycol. France. T. XXIV. 1908. p. 1—13.)

Septobasidium scopiforme Pat. (Brasilien) mit Abbildung, Heterochaete sublivida (Louisiana), Exidia olivacea (Louisiana), Hypochnus Langloisii (Louisiana), Tomentella aurantiaca (Guadeloupe), Leucoporus Dictyoporus (Guadeloupe), Pseudofavolus auriculatus (Louisiana), Microporus flabelliformis var. crenatilobatus (Neucaledonien), Merulius chlorinus (Neucaledonien), Xanthochrous Ludovicianus (Louisiana), Xanthochrous fusco-velutinus (Louisiana), X. Rickii (Brasilien), Hydnum crocidens Cooke, var. subexcentricum (Neucaledonien), Crinipellis Bambusae (Brasilien), Mycena chlorocephala (Neucaledonien), Rosellinia Pepo (Guadeloupe), Laestadia Coccocarpiae (Chili), Metasphaeria aquatica (Jura), Cordyceps Klenei (Brasilien), Leptothyrium glomeratum (Guadeloupe), Septoria Riviniae (Guadeloupe). Neger (Tharandt).

Patouillard, N. et **Hariot, P.**, Fungorum novorum decas tertia. (Bulletin trim. Soc. mycol. France. T. XXIV.)

Puccinia Dactylothenii auf B. von Dactyloctenium aegyptiacum, P. lippiicola auf B. von Lippia adoensis, Lentinus baguirmiensis (Baguirmi), Scleroderma leptopodium (Oubangui), Meliola dracaenicola auf Dracaena (Congo), Dimerosporium Berliniae auf Berlinia sp. (Chari), Dothiorella Daniellae (Casamance), Cercospora Amorphophalli auf Amorphophallus (Oubangni), Cercospora inconspicua auf Calotropis (Chari), Cercospora peronosporoidea auf einer Asclepiadee (Chari). Neger (Tharandt).

Bubák, F., Neue und kritische Pilze. [Fortsetzung.] (Annales mycologici. Bd. VI. 1908. p. 22—29.)

Folgende neue Arten werden beschrieben:

P. Bäumleriana (verwandt mit P. Anthemidis) auf Anthemis tinctoria; Phyllosticta Malkoffi auf Gossypium herbaceum (Bulgarien); Ascochyta Ferdinandi auf Sambucus ebulus (Bulgarien); Septoria bulgarica auf Cirsium appendiculatum (Bulgarien); ferner werden näher untersucht und beschrieben: Ovularia Vitis Richon, auf Vitis vinifera; Ramularia Asteris (bisher als Fusidium Asteris bekannt) auf Aster Tripolium, Ramularia Butomi Lind. auf B. umbellatus; Cercospora dubia Riess und Cercospora Chenopodii auf Atriplex bezw. auf Chenopodium (bisher als Ramularia dubia bezw. Cercospora dubia bekannt). Neger (Tharandt).

Bubák, Fr. und **Kabát, I. E.**, Mykologische Beiträge. (Hedwigia. Bd. XLVII. 1908. Heft 6. p. 354—364. Mit 1 Textfigur.)

Außer neuen Arten der Gattungen Phyllosticta, Asteroma, Ascochyta, Septoria, Staganospora, Coniothyrium, Discula, Cylindrosporium, Heterosporium wird auch der neue Uromyces Bäumlerianus Bub. beschrieben, der in Ungarn auf Melilotus albus gefunden wurde und der mit Ur. Anthyllidis verwandt ist. Matouschek (Wien).

Hollós, László, Uj gombák kecskemét vidékéről. [= Fungi novi regionis kecskemétiensis.] I.—IV. Pars. (I., II. und IV. Pars in Annales historico-naturales musei nationalis Hungarici. Pars secunda, Budapest. Vol. IV. 1906. p. 327—371; Vol. V. 1907. p. 43—55; Vol. V. 1907. p. 452—468; III. Pars in Növenytani Közlemények, Budapest 1907. Vol. VI. p. 59—67. [In magyarischer Sprache.] In I. Pars 2 Taf.)

Verf. beschreibt in den beiden zitierten Zeitschriften durchwegs neue, nur aus Ungarn stammende Arten und Formen, die sich auf folgende Gattungen erstrecken:

Ramularia, Ascochyta, Ophiobolus, Cercospora, Pestalozzia, Pestalozina, Camarosporium, Wojnowicia, Hendersonia, Diplodia, Microdiplodia, Coniothyrium, Staganospora, Phlyctaena, Rhabdospora, Diplodina, Cytospora, Vermicularia, Pyrenochaete, Sphaeronema, Phoma, Phyllosticta, Leptosphaeria, Pleospora, Sphaerella, Cucurbitaria, Lophiostoma, Periosporium.

Die Diagnosen sind lateinisch. Die Beziehungen zu verwandten Arten und der Wirt werden angeführt. Matouschek (Wien).

Severini, Giuseppe, Primo contributo alla conoscenza della flora micologica della Provincia di Perugia. (Annali di botanica. Vol. VI. Fasc. 2. 1907. p. 277—303.)

Befaßt sich mit Pyrenomyceten, Sphaeropsideae, Melanconieae, Hyphomyceteae, Phycomyceteae, Basidiomyceteae (sehr ausführlich), Uredineae inferiores, Discomyceteae, Mycelia sterilia. Ueber Pflanzenschädlinge, welche in der genannten Provinz und den ihr benachbarten Provinzen auftreten, erhalten wir einen guten Ueberblick.

Matouschek (Wien).

Adams, T., Irish parasitic fungi. (The Irish Naturalist. Vol. XVI. 1907. p. 167—169.)

Neu beschrieben wird Claviceps Junci und Cicinnobolus Ulicis. Die anderen angeführten Arten sind für Irland neu.

Matouschek (Wien).

Bresadola, J., Fungi aliquot gallici novi vel minus cogniti. (Annales mycologici. Vol. VI. 1908. No. 1. p. 37—47.)

Neu sind: Irpex Galzinii (ad truncos Juniperi), Corticium expallens (ad truncos Salicis albae), Corticium filium (ad muscos, amenta Castaneae et frustula varia), Corticium praetermissum Karst. var. Bourdotii Bres. (ad ramos Fraxini et Quercus), Coniophora Bourdotii (ad ligna Platani), Clavaria Bourdotii (ad frustula lignea conglomerata), Sebacina (Bourdotia) Galzinii (ad truncos Fraxini et Salicis), Lycoperdon Bubákii (in pratis paludosis in Montenegrino), Leotia Batailleana (ad terram gregarie vel subcaespitose), Naemospora Castaneae (in capsula dehiscentibus Castaneae vescae), Trichosporium Staritzii (in spinis capsulae Castaneae vescae), Hypomyces Trichoderma (Hoffm.) Sacc. var. Schorsteini (ad asseres quercinas in ducto vaporario), Tremella encephala (Willd.) Bref. var. Steidleri (ad truncos Quercus). — Von vielen Arten der Gattung Polyporus, Fomes, Trametes,

Daedalea, Poria, Merulius, Irpex, Odontia, Thelephora, Stereum, Corticium, Peniophora, Hypochnus, Exidia, Sebacina werden ausführliche Diagnosen entworfen und Notizen über die Verbreitung, Systematik und Nomenklatur angeführt.

Matouschek (Wien).

Lind, J., Bemerkungen über einige parasitische Pilze aus Rußland. (Annales mycologici. Vol. VI. 1908. No. 2. p. 99—104.)

Revision eines ganz unbekannten Exsikkatenwerkes, das betitelt ist: N. C. Sredinsky, Herbarium cryptogamicum rossicum, sectio quarta, Fungi. Nur 1 Faszikel ist erschienen, enthaltend 50 Nummern, ausgegeben in St. Petersburg 1876. Aufbewahrt ist das Werk im botanischen Museum der Kopenhagener Universität. Verf. geht Nummer für Nummer durch. Uns interessiert: Uromyces Heliotropii Sredn. (auf Heliotropium europaeum bei Odessa). Außerdem studierte Verf. einige im Phanerogamenherbar aus Rußland stammende Pilze, z. B. Gloeosporium Veronicarum Ces. auf Veronica hederifolia, mit dem sich Verf. eingehend beschäftigt. Auf dieser Pflanze wurde der Pilz in Deutschland, Dänemark und Rußland gefunden. Synonym dazu ist Gl. pruinosum Bäumler und vermutlich auch Gl. arvense Sacc. et Penzig. Mit der Pflanze stimmt auch No. 326 der „Fungi imperfecti exs." (von Kabát et Bubák als Gl. pruinosum determiniert) überein.

Matouschek (Wien).

Malkoff, Konstantin, Erster Beitrag zur Kenntnis der Pilzflora Bulgariens. (Annales mycologici. Vol. VI. 1908. No. 1. p. 29—36..)

Erstes Verzeichnis der vom Verf. bei Philippopel und in den Rhodopen gefundenen Pilze, die von Fr. Bubák revidiert wurden. Es werden im ganzen 208 Arten aufgezählt, von denen viele schädigend auftreten.

Matouschek (Wien).

Atkinson, G. F., Notes on some new species of fungi from the United States. (Annales mycologici. Vol. VI. 1908. p. 54—62.)

Mit englischen und lateinischen Diagnosen wird eine größere Anzahl von Pilzen als neu beschrieben. Die neuen Arten rekrutieren sich aus folgenden Gattungen: Armillaria, Bolbitius, Clavaria (15 Arten), Lachnocladium, Libertella, Rhabdospora, Tremellodendron, Trimmatostroma, Typhula, Tyromyces (Polyporus, 3 Arten.)

Matouschek (Wien).

Hennings, Paul, Fungi bahienses a cl. E. Ule collecti. (Hedwigia. Bd. XLVII. p. 266—270.)

Neue Pilzarten aus den Gruppen: Ustilaginaceae, Uredinaceae, Dothideaceae, Sphaeriaceae, Microthyriaceae, Helotiaceae, Sphaeropsidaceae und Leptostromataceae. Außerdem eine größere Zahl von schon bekannten Arten aus diesen Gruppen und aus den Excipulaceen, Hypocreaceen.

Matouschek (Wien).

Maire, R., Champignons de S. Paulo (Brésil). Fasc. 1. (Annales mycologici. Bd. VI. 1908. p. 144—153. Mit 1 Taf. und 7 Textfig.)

Die Pilze sind von Usteri gesammelt und von Maire bestimmt worden. Als neu werden folgende Arten beschrieben:

Dimerium Guinieri auf Häufchen der Meliola amphitricha, Maireella Sydow n. gen. mit einer Art: M. maculans auf B. einer Komposite (die Perithecien von Maireella sind mündungslos, kugelig, oberflächlich und wie bei Cucurbitaria herdenweise angeordnet), Asterina Usterii auf B. einer Euphorbiacee, A. typhospora auf B. einer Myrtacee, Parmularia dimorphospora auf gleichem Substrat, Phyllachora Petitmenginii auf einer Myrtacee, Placosphaeria pustuliformis auf B. einer Lauracee.

Neger (Tharandt).

Sydow, H. et P., Einige neue von Herrn J. Bornmüller in Persien gesammelte Pilze. (Annales mycologici. Bd. VI. 1908. p. 17—19.)

Diagnosen der folgenden neuen Arten: Uromyces persicus Syd. auf B. von Astragalus multijugus, Puccinia chaerophyllina auf Chaerophyllum macropodum, Aecidium Pisi formosi auf Pisum formosum, Pleospora persica auf Diplotaenia cachrydifolia, Septoria Bornmülleri auf Nepeta teucriifolia.

Neger (Tharandt).

Hennings, P., Fungi philippinenses. I. (Hedwigia. Bd. XLVII. p. 250—265.)

Von den Ustilaginaceen werden 2 neue Arten, von den Uredinaceen 9, von den Perisporiaceen 1, von den Hypocreaceen 2, von den Dothideaccen 11, von den Sphaeriaceen 3, von den Pleosporaceen 3, von den Cucurbitariaceen 1, von den Amphisphaeriaceen 1, von den Valsaceen 1, von den Diatrypaceen 1, von den Xylariaceen 5, von den Microthyriaceen 2, von den Hysteriaceen 6, von den Placidiaceen 2, von den Patellariaceen 1, von den Sphäropsidaceen 10, von den Nectrioideaceen 1, von den Desmatiaceen 3 und von den Stilbaceen 1 Art beschrieben. Außerdem wird eine recht große Zahl seltener Arten, auch aus der Gruppe der Melanconiaceae und Mucedinaceae, angeführt. Matouschek (Wien).

Hennings, Paul, Fungi in „Etudes de systématique et de géographie botaniques sur la flore du bas et du moyen Congo". (Annales du Musée du Congo. Botanique. Sér. V. Vol. II. Fasc. 2. 1907. Sept. p. 85—106.)

Aufzählung aller von H. Vanderyst im Kongogebiete gesammelten Pilze, von denen eine große Zahl neu sind. Es sind viele Parasiten darunter. Die neuen Arten werden lateinisch beschrieben. Der Wirt konnte leider oft nur der Gattung nach bestimmt werden.

Matouschek (Wien).

Miehe, H., Thermoidium sulfureum n. gen. n. sp., ein neuer Wärmepilz. (Berichte d. Deutschen Botan. Gesellschaft. Bd. XXV. 1907. p. 510—515. Mit 5 Textfiguren.)

In aufgehäuften Pflanzenmassen, z. B. im Heu, die sich im Zustande der Selbsterhitzung befinden, fand Verf. diesen interessanten Hyphomyceten, auf den er schon in seiner Arbeit „Die Selbsterhitzung des Heues"

hingewiesen, dort aber nicht genau beschrieben hat. Die hier auszugsweise gegebene Charakteristik lautet: Vielzelliges Mycel, das Luftmycel regelmäßig rechtwinklig verzweigt. Die Enden häufig spiralig gewunden. Die Hyphen geben beim Zerfall Sporen. Farbe der Mycelfäden schwefelgelb. Sporen farblos, 2,5 μ lang, 2,5—3 μ breit. Auf traubenzuckerhaltigem Agar stets einen karminroten Farbstoff entwickelnd. Optimum 35—45°, Minimum 30°, Maximum 53°. Matouschek (Wien).

Claussen, P., Ueber Entwickelung und Befruchtung bei Saprolegnia monoica. (Festschr. zur Feier des 25-jährigen Bestehens der Deutschen Botanischen Gesellschaft, gleichzeitig Bd. XXVI der Berichte der Deutschen Botan. Gesellschaft. 1908. p. 144—161. Mit 1 Doppeltafel.)

Da sich die Ergebnisse von Davis und Trow zum Teil diametral gegenüberstehen, so studierte Verf. nochmals die Cytologie dieser Pilzgruppe und gelangt zu folgenden Resultaten:

Saprolegnia monoica entwickelt Oogonien und Antheridien (andere Formen sind sicher apogam). Die ersteren enthalten in der Jugend viele Kerne und sind mit Plasma dicht erfüllt. Später tritt eine von der Oogonmitte gegen die Peripherie hin fortschreitende Degeneration von Kernen und Plasma ein, die so lange anhält, bis nur noch ein dünner Plasmabelag mit wenigen Kernen übrig ist. Die Kerne teilen sich einmal simultan mitotisch. Um einige der Tochterkerne ballen sich die Eier; jedes Ei ist einkernig, der Eikern zeigt anfangs ein Centrosom. Die von Davis für Cönocentren gehaltenen stark färbbaren Körper in der Nähe der Kerne der Eizellen sind identisch mit den ebenerwähnten Centrosomen, die an der Spitze eines vom Kern ausgehenden Schnabels liegen. Die Antheridien treiben durch die Tüpfel der Oogonmembran hindurch Fortsätze ins Oogoninnere hinein, die entweder einfach bleiben oder sich verzweigen, in jedem Falle aber sich an die Eizellen anlegen und einen Kern in sie hineinlegen, der mit dem Eikern verschmilzt. Infolgedessen sind ältere Oosporen stets einkernig. Eine Reduktion der Chromosomen findet im Oogon nicht statt; sie vollzieht sich erst in der keimenden Oospore. Verf. gibt seine Untersuchungsmethoden sehr genau an. Matouschek (Wien).

Tiraboschi, C., Attenuazione del potere germinativo delle spore di Penicillium glaucum mantenuto a 37° C. (S. A. aus Rivista pellagrologica. Vol. VIII. 1908. No. 2. 16 pp.)

Sporen von Penicillium glaucum büßen beim Aufbewahren im Thermostaten bei 37° ihre Keimkraft bereits innerhalb 15 Tage ein; nach einem Monat ist das Keimungsvermögen vollkommen verschwunden. Bei den innerhalb des Monates noch keimenden Sporen wurde eine Keimungsverspätung von mehreren Tagen beobachtet. Auf Kartoffeln bleibt die Keimkraft etwas länger beibehalten. Gummiverschluß übt eine geringfügige Schutzwirkung aus. E. Pantanelli (Rom).

Lendner, A., Cinq espèces nouvelles du genre Mucor. (Bull. de l'herbar. Boissier. Sér. 2. Vol. VIII. 1908. p. 78—79.)

Folgende Arten werden neu beschrieben: Mucor lamprosporus (in Erde am Berge Mt. Vuache, steht dem M. sphaerosporus nahe); M. dimorphosporus (isoliert aus einer Kultur vom Boden der Cabane

Jansen auf dem Mont Blanc-Gipfel); M. spinescens (auf einer Nuß aus Brasilien, sehr verwandt mit M. plumbeus); M. genevensis (aus einem Walde bei Genf, auf Brot leicht Zygosporen bildend); M. lausannensis (auf einer Agaricinee in einem Walde bei Lausanne, verwandt mit M. tenuis und M. racemosus).

Matouschek (Wien).

Brooks, Observations on the biology of Botrytis cinerea. (Annals of Botany. Bd. XXII. p. 479—487.)

Es ist bekannt, daß Botrytis cinerea nicht nur als Saprophyt, sondern auch als Parasit zu leben vermag. Die näheren Bedingungen, unter welchen das letzere eintritt, bilden den Gegenstand dieser Untersuchung. Einleitend wird das Verhalten des Pilzes auf verschiedenen künstlichen Nährböden beschrieben. Die Infektionsversuche wurden an jungen Lattichpflanzen angestellt. Sporen, auf gesunde Blätter gebracht, keimen zwar, aber die Keimschläuche gehen bald zugrunde. Dies geschieht auch dann, wenn die Pflanze sich in wasserdampfgesättigter Atmosphäre befindet. Kräftige Mycelien (aus Reinkulturen) hingegen infizieren leicht.

Auch an Wunden erfolgt leicht die Infektion und zwar sogar durch Konidien. Blätter, welche eben im Begriff sind zu vergilben, werden durch Konidien sehr leicht infiziert; der Keimschlauch durchbohrt dabei die Epidermis und dringt in das Blattgewebe ein. Pflanzen, welche einige Tage im Dunkeln gehalten werden, sind gleichfalls sehr empfänglich für die Angriffe des Pilzes. Dagegen hat die mineralische Ernährung keinerlei Einfluß auf die Immunität der Wirtspflanze. Eine Reihe von Pflanzen wurde in Nährlösungen von verschiedener Zusammensetzung erzogen. Alle zeigten sich gegenüber der Infektion durch Konidien gleich widerstandsfähig.

Neger (Tharandt).

Kooders, L. H., Ueber Wiesneriomyces, eine im Jahre 1906 in Java entdeckte Gattung der Tuberculariaceae-Mucedineae-Phragmosporeae. [Wiesner-Festschrift. p. 329—331. Mit 1 Textabbildung.] Wien (Karl Konegen) 1908.

Der Verf. hat in 2 Abhandlungen auf die neue Gattung und die neue Art W. Javanicus Kood. bereits aufmerksam gemacht, doch fügt er hier erst die lateinischen Diagnosen bei. Die Gattung bezw. Art wurde auf abgefallenen abgestorbenen Blättern von Ficus elastica cult. in Java gefunden. Die dort angestellten Reinkulturen, welche aber leider abgebrochen werden mußten, ergaben aus den Konidien ein reichverzweigtes, septiertes Mycel mit vielen ascusfruchtähnlichen Bildungen; neue Konidien wurden nicht gebildet. Die Konidien sind nur einzeln betrachtet hyalin, in Massen zeigen sie eine schöne blaßrötliche Färbung. Die Abbildung von Pilzdetails ist eine Kopie aus einer der früheren Abhandlungen; sie zeigt, daß der Pilz mit Chaetostroma Corda verwandt ist, aber nie einzellige Konidien besitzt.

Matouschek (Wien).

Hagem, Oskar, Untersuchungen über norwegische Mucorineen. Teil I. (Videnskabs-Selskabets Skrifter. I. Math.-naturw. Klasse 1907. No. 7. Christiania 1908. 50 pp. des Separatabdruckes. Mit vielen Textabbildungen.) [Deutsch.]

Der vorliegende I. Teil der Arbeit handelt von den systematischen und

morphologischen Charakteren der erdbewohnenden Mucorineen Norwegens, die teils schon bekannt, teils aber neu sind. Im II. Teile wird eine Charakterisierung der einzelnen Arten mit Rücksicht auf physiologische Merkmale folgen.

Einige wichtigere Punkte sind hervorzuheben: 1) Reinkulturverfahren. Folgende Methode bewährte sich: Etwas Sporenmaterial wird mittels Platinöse in einen Kolben mit etwa 30 ccm sterilisiertem Wasser gebracht. Nach tüchtigem Umschütteln gießt man einige Kubikzentimeter des sporenhaltigen Wassers in einen 2. Kolben mit H_2O, verfährt in gleicher Weise und bringt endlich einige Tropfen in einen 3. Kolben. Nach wiederholtem Umschütteln werden etwa 2 ccm von dem Wasser in eine Petri-Schale mit festem Nährsubstrat gebracht, auf die ganze Oberfläche derselben verteilt und hernach durch Umkehrung der Schale vorsichtig abgegossen. Diese wird 2—3 Tage bei gewöhnlicher Temperatur stehen gelassen. Nach dieser Zeit haben Sporen zu keimen begonnen, und man sucht sich nun eine möglichst isolierte Kolonie aus, öffnet die Schale und bringt sie schnell unter das Mikroskop. Sofort erkennt man, daß die Kolonie von einer einzigen Spore stammt, schneidet sie mit einem Platinmesser los und bringt den kleinen Substratwürfel auf neues Substrat in einer zweiten Schale.

2) Der Inhalt der Luft an Mucorineenkeimen. Verf. hat in Christiania und Umgebung Petri-Schalen mit diversen festen Nährsubstanzen exponiert, und zwar 1–10 m über den Straßen; andere wurden in Wald und Feld gebracht. Mucor racemosus und M. stolonifer waren sehr häufig, M. spinosus nicht selten, M. arrhizus (Fischer) Hagem selten, M. pussillus Lindt., M. circinelloides van Tieghem und Thamnidium elegans Link wurden nur 2—3mal gefunden. Natürlich waren Arten von Penicillium, Aspergillus und Cladosporium ganz gemein, doch wurden sie mit Absicht nicht berücksichtigt. Mucorineen kommen in der Luft sicher verhältnismäßig selten vor, bei schönem Wetter wurden sie wegen des Emporwirbelns des Staubes stets häufiger gefunden als bei trübem Wetter. Entwickelungsfähige Sporen waren selbst in Luft von —25° C vorhanden.

3) Die Mucorineen des Erdbodens. Verf. hat jede Petri-Schale mit nur wenigen kleinen Erdpartikelchen (Acker-, Wiesen-, Garten-, Walderde und selbst moderndes Holz) geimpft. Dies tat er deshalb, weil sonst die kleinen Formen (z. B. M. Ramannianus) von größeren Formen (M. hiemalis) leicht überwuchert werden. Sobald die Fruktifikation beginnt, muß das Material auf neues Substrat übergeführt werden. Verf. konnte aus dem Erdboden 16 verschiedene Arten, darunter 7 neue, isolieren. Am verbreitetsten ist M. hiemalis. Eine gut begrenzte und studierte Gesellschaft ist die Mucor Ramannianus-Gesellschaft: M. Ramannianus, strictus, flavus, silvaticus, racemosus, hiemalis und Absidia Orchidis. In Fichtenwäldern kommt sie stets vor. Verf. gibt auch an dieser Stelle einen Ueberblick über die Arbeiten von Iterson, Reinitzer, Nikitinsky und Koning.

4) Zygosporenbildung bei den Mucorineen. Im Anschluß an die Arbeiten von Blakeslee fand Verf., daß M. hiemalis aus der Umgebung von Christiania bezüglich seiner Mycelien zu 50 Proz. neutral ist; von den Mycelien aber, die ihre Sexualität behalten haben, kommt das eine (das —Mycelium im Sinne Blakeslees) viel häufiger vor als das +Mycelium, und zwar ist das Verhältnis 21:5. Der genannte Forscher fand in den äußeren ungünstigen Lebensbedingungen einen Faktor für

die Reduktion der Sexualität; nach dem Verf. dürfte auch eine niedrige Temperatur zu dem gleichen Resultate führen. Doch sind die diesbezüglichen Untersuchungen noch nicht abgeschlossen.

5) Uebersicht der Species. Ein Gattungs- und Artenschlüssel. Es folgen nun für jede Art die genaue Diagnose, die Zygosporenbildung, das Vorkommen, Züchtungsversuche, Verwandtschaftsverhältnisse und geschichtliche Rückblicke (p. 18—48). Als neu werden beschrieben und in zahlreichen Details abgebildet: Mucor strictus, M. sphaerosporus, M. griseo-cyanus, M. silvaticus, M. norvegicus, Absidia glauca, A. cylindrospora. Von diesen und anderen schon bekannten Arten übersandte Verf. Kulturen der Zentralstelle für Pilzkulturen der „Association internationale des botanistes".

Mit Recht hat Verf. zuerst die Arten genau beschrieben und ihre Morphologie behandelt, weil erst dann eine physiologische und biochemische Untersuchung möglich ist, auf welche wir recht gespannt sein können.

Matouschek (Wien).

Lind, J., Sur le développement et la classification de quelques espèces de Gloeosporium. (Arkiv för Botanik. Bd. VII. 1908. No. 8. 25 pp. mit 3 Taf.)

Exobasidium Brevieri Boud. wird für identisch mit Gloeosporium filicinum Rostrup gehalten. Der Pilz wird zu den Protobasidiomyceten (Gruppe Stypinelleae) gestellt und als Typus einer neuen Gattung (Herpobasidium) hingestellt. Daher mußte er umgetauft werden. Die Art wurde gefunden auf Aspidium filix-mas, A. Dryopteris, A. Phegopteris und Cystopteris montana in Rußland, Dänemark, ganz Skandinavien, Frankreich. Gloeosporium Phegopteridis Frank und Gl. Phegopteridis Pass. sind nach Ansicht des Verf. die Uredoform von U. filicina (Niessl) P. Magn., Gloeosporium Struthiopteridis Rostr. aber ist identisch mit Uredinopsis Struthiopteridis Störm. Auf Weidenkätzchen treten 4 verschiedene Gloeosporium-Arten auf.

Matouschek (Wien).

Arthur, J. C., Peridermium pyriforme and its probable alternate host. (Rhodora. Vol. IX. 1907. p. 194.)

Der genannte Pilz scheint zu Cronartium Comptoniae Arthur zu gehören. Dafür spricht auch das gemeinsame Vorkommen beider Pilze und ihre geographische Verbreitung. Matouschek (Wien).

Edgerton, C. W., Notes on a parasitic Gnomonia. (Bulletin Torrey Bot. Club. Vol. XXXIV. 1907. p. 593—597. Mit 3 Figuren.)

Gnomonia Rubi Rehm tritt auch auf Zweigen von Rubus nigrobaccus im Staate New York auf. Kulturversuche auf Agar gelingen leicht. Der Pilz konnte auf lebende Rubus-Stengel übertragen werden. Er ist ein schwacher fakultativer Parasit.

Matouschek (Wien).

Salmon, E. S., Notes on some species of Erysiphaceae from India. (Annales mycologici. Vol. V. 1907. p. 476—480.)

Verf. beschreibt zunächst einige Infektionsversuche, welche er mit Ascosporen von Erysiphe graminis (auf Triticum vulgare, aus Indien stammend) angestellt hat. Er fand, daß die Infektion erfolgte

bei Triticum vulgare und Hordeum silvaticum (obwohl die letztere Pflanze in Indien nicht vorkommt). Hingegen blieben gesund Hordeum vulgare und Avena sativa. Weiterhin beschreibt Verf. als neue Art eine auf den Blättern von Tectona wachsende Uncinula, nämlich U. Tectonae. Neger (Tharandt).

Salmon, E. S., The Erysiphaceae of Japan. III. (Annales mycologici. Vol. VI. 1908. p. 1—16.)

Verf. erhielt aus Japan eine beträchtliche Zahl Erysipheen zugesandt, deren Bestimmungen hier mitgeteilt werden. Besonders häufig kommen in Japan Erysiphe Polygoni, Microsphaera Alni, Phyllactinia corylea, Sphaerotheca Humuli nebst var. fuliginea sowie zahlreiche Konidienformen, die einstweilen noch unter dem Namen Oidium erysiphoides zusammengefaßt werden, vor. Es sind dies sämtlich Species, die auch in Europa zu den häufigsten gehören.

Von Interesse sind ferner einige Novitäten: Als Uncinula simulans wird eine Art bezeichnet, die auf Rosa multiflora auftritt und die mit der schädlichen U. necator überraschende Aehnlichkeit zeigt. Auf Stephanandra flexuosa kommt eine Form vor, die fast völlige Uebereinstimmung mit dem gefürchteten Stachelbeermehltau zeigt und die vom Verf. auch als var. japonica zu Sphaerotheca mors uvae gestellt wird. Ferner werden noch zwei neue Varietäten von Microsphaera Alni beschrieben.

Hervorzuheben ist mit Rücksicht auf die geographische Verbreitung besonders das Auffinden von Microsphaera diffusa in Japan auf Magnolia. Die Art war bisher nur aus Nordamerika bekannt, wo sie auf Leguminosen und Symphoricarpus auftritt.

H. Sydow (Schöneberg-Berlin).

Murrill, W. A., Polyporaceae. (North American Flora. Vol. IX. Part I. 1907. 72 pp.)

Die Arbeit ist dadurch merkwürdig, daß sie eine große Zersplitterung der bisher allgemein angenommenen Gattungen der Polyporaceen vornimmt. Es werden im ganzen 66 Gattungen aufgestellt, so daß man kaum eine bestimmte Art zu finden imstande ist. Dazu kommt noch, daß Verf. nicht nur viele Arten einzieht, sondern auch viele Arten neu aufstellt und wegen strengen Prioritätsprinzipes nicht selten den Speciesnamen ändert. Ob das Vorgehen des Verf. sich viele Freunde verschaffen wird, wird die Zukunft lehren. Matouschek (Wien).

Edgerton, C. W., Two little known Myxosporiums. (Annales mycologici. Vol. VI. 1908. p. 48—53. 2 Fig.)

Im nordöstlichen Teile der Vereinigten Staaten kommt auf Apfel- und Birnästen recht häufig eine Rindenkrankheit vor, als deren Verursacher Sphaeropsis malorum gilt. Verf. macht darauf aufmerksam, daß mit dieser Art ein anderer zu Myxosporium gehöriger Pilz verwechselt worden ist, der ebenfalls recht schädigend auftritt. Der letztere wird als M. corticolum n. sp. bezeichnet und ausführlich beschrieben.

Eine zweite neue Myxosporium-Art (M. longisporum) tritt schädigend auf Zweigen des Tulpenbaumes auf.

H. Sydow (Schöneberg-Berlin).

Reade, J. M., Preliminary notes on some species of Sclerotinia. (Annales mycologici. Vol. VI. 1908. p. 109—115.)

Verf. beabsichtigt, die interessante Gattung Sclerotinia einem eingehenden Studium zu unterwerfen. In der vorliegenden Abhandlung werden einstweilen nur die Diagnosen einer Anzahl amerikanischer meist neuer Arten mitgeteilt.

Sclerotinia Vaccinii-corymbosi n. sp. entwickelt sich auf Zweigen und Früchten von Vaccinium corymbosum. Die Apothecien entwickeln sich Anfang April aus den mumifizierten Früchten, während die Chlamydosporenform im Juni auf den lebenden Schößlingen und Blütenständen der Pflanze auftritt. Sclerotienbildung in den Früchten erfolgt im August.

Scl. Polycodii n. sp. auf Zweigen und Früchten von Polycodium stamineum verhält sich in der Bildung der Apothecien, Chlamydosporen und Sklerotien wie die vorgenannte Art.

Scl. Johnsoni (Ell. et Everh.) Rehm kommt auf Blättern und Früchten von Crataegus punctata vor. Die Apothecien erscheinen Anfang Mai aus den mumifizierten Früchten, während die Chlamydosporenform im Juni auf den Blättern auftritt. Die von P. Magnus in den Berichten der Deutsch. Botan. Gesellschaft 1905. p. 197 aus Deutschland beschriebene Scl. Crataegi stimmt mit dem nordamerikanischen Pilze in allen Teilen überein.

Scl. Seaveri Rehm auf Prunus serotina bildet Ende April und Anfang Mai Apothecien aus den Früchten, Chlamydosporen auf den Blättern im Juni und auf den Früchten im Juli.

Scl. angustior n. sp. auf Prunus virginiana verhält sich ähnlich wie die vorhergehende Art, tritt jedoch im allgemeinen etwas zeitiger auf.

Scl. Corni n. sp. auf Cornus circinata ist nur in den Chlamydosporen bekannt geworden, welche sich auf den Blättern der Nährpflanze im Juni und Juli entwickeln.

Scl. Amelanchieris n. sp. bildet die Chlamydosporen auf den Früchten von Amelanchier-Arten im Juni aus. Apothecien noch unbekannt.

Scl. Tiliae n. sp. entsteht aus den sklerotisierten Früchten von Tilia americana im April.

Scl. fructigena (Pers.) Norton ist häufig auf vielen Arten der Drupaceae und Pomaceae. Die gefürchtete Monilia fructigena Pers. stellt die zugehörige Chlamydosporenform des Pilzes dar.

H. Sydow (Schöneberg-Berlin).

Wulff, Massenhaftes Auftreten eines Schleimpilzes auf Torfmoorwiesen. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XVIII. 1908. p. 2.)

Es wird über das „verheerende Auftreten“ eines wiesenschädigenden Myxomyceten, Spumaria alba Bull. auf dem Versuchsfeld des schwedischen Moorkulturvereins bei Flahult berichtet. Der Pilz wurde nur auf mindestens 3 Jahre alten Wiesen gefunden, es scheint also, daß er sich nur während einer gewissen Ruheperiode des Substrats entwickeln kann. Die Aethalien der Spumaria-Plasmodien fanden sich erst 3—4 cm über der Erdoberfläche und wanderten bis 14—16 cm hoch auf den Gräsern hinauf. Ueber die Art und Folgen einer Beschädigung macht

Verf. keine Angaben. Die reichliche Entwickelung der Spumaria wird namentlich auf die nasse Witterung zurückgeführt. Giftige Wirkungen des befallenen Heues sind nicht beobachtet worden.

Schaffnit (Bromberg).

Boudier, E., Histoire et classification des Discomycètes d'Europe. 8°. 223 p. Paris (P. Klincksieck) 1907.

Wer Discomyceten-Studien betreiben will, muß zu diesem Buche greifen. Verf. legt hier die Resultate seiner Lebensarbeit nieder. Er teilt die Familie in 2 Gruppen ein, die der Operculatae und Inoperculatae, welche 2 einander parallele Reihen darstellen. Der Gattung Morchella und Helvella bezw. den Pyrenomaceae und Exoascaceae entsprechen in der anderen Reihe Geoglossum und Mitrula bezw. Ascocorticium und Ascoidea. Jede Gruppe wird eingeteilt in die Marginatae und Immarginatae. Die Verwandtschaft der einzelnen Gattungen wird bei der Neuumgrenzung der Gattungen zur Richtschnur genommen. Es wird genau angegeben, welche Arten zu den neuumgrenzten Gattungen zu stellen sind. Ueber 50 Arten werden neu beschrieben.

Matouschek (Wien).

Wielandt, Polyporus radiciperda paa Lyng (P. r. auf Heidekraut. (Tidskrift for Skovväsen. Bd. XIX. 1907. p. 147.)

Verf. fand auf einer Fläche, welche ehemals Fichte, jetzt aber eine Verjüngung von Edeltanne, Nordmannstanne und Sitkafichte trug, die Fruchtkörper des P. radiciperda sowohl an Sitkafichte als auch an einem kräftigen Busch von Calluna vulgaris. Neger (Tharandt).

Klebahn, Untersuchungen über einige Fungi imperfecti und die zugehörigen Ascomycetenformen. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. Bd. XVIII. 1908. Heft 1. p. 5—17.)

Verf. berichtet über seine Untersuchungen über Septoria piricola Desm., beschreibt die Konidien- und Ascosporenform, die angestellten Infektionsversuche und Reinkulturen aus Ascosporen und Konidien. Aus den Beobachtungen ergibt sich, daß der von Fuckel angenommene Zusammenhang von Mycosphaerella sentina mit Septoria piricola bezw. nigerrima richtig ist, die von anderer Seite vermutete Beziehung der Septoria piricola zu Leptosphaeria Lucilla wird somit hinfällig. Bezüglich der sich neu gestaltenden Synonymik für Mycosphaerella sei auf die Originalarbeit verwiesen.

Anhangsweise wird die Frage erörtert, ob außer der Septoria noch andere Fungi imperfecti in den Entwickelungskreis der Mycosphaerella sentina gehören. Verf. ist der Ansicht, daß Septoria piricola die einzige Konidienform der Mycosphaerella sentina ist.

Ferner werden die gewonnenen Ergebnisse mit den seiner Zeit bei Mycosphaerella Ulmi festgestellten Verhältnissen verglichen, und ermittelt, daß zu Ascosporenpilzen aus der Gattung Mycosphaerella verschiedenartige Konidienformen gehören können, solche, die man bisher in die Gattung Phleospora und in die Gruppe der Melanconiaceen stellte und auch solche, die zu Septoria und in die Gruppe der Sphäropsideen gehören.

Für die Klärung der Systematik dieser Pilze bedarf es der Feststellung weiterer Zusammenhänge. Schaffnit (Bromberg).

Klebahn, Untersuchungen über einige Fungi imperfecti und die zugehörigen Ascomycetenformen. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. Bd. XVIII. 1908. Heft 3. p. 129—154.)

In der Fortführung seiner sorgfältigen Untersuchungen stellt Verf. die Zusammengehörigkeit einiger weiterer Fungi imperfecti fest, zunächst zweier Pilze auf Blättern von Prunus Padus L., Asteroma Padi und Gnomonia padicola, welche sich im Herbst bezw. auf überwintertem Material vorfanden. Der Zusammenhang wurde bewiesen durch erfolgreiche Infektionsversuche mit Ascosporen, Reinkulturen aus Ascosporen und Konidien sowie deren mikroskopische Prüfung. Im folgenden Abschnitt sucht Verf. die Widersprüche in der vorliegenden Literatur (die von ihm zusammengestellt und besprochen ist) bezüglich der Zusammengehörigkeit einiger Erlenblattpilze: Leptothyrium alneum, Discosia alnea, Gnomoniella tubiformis, Gloeosporium alneum u. a. so weit es möglich ist, zu klären. Nachgewiesen wurde die Zugehörigkeit von Leptothyrium zu Gnomoniella. Ueber die weiteren Einzelheiten der Forschungsergebnisse, namentlich auch in bezug auf die für die Umgestaltung der Synonymie der Pilze wichtigen Untersuchungen hier zu berichten, ist nicht möglich, sie müssen vielmehr, um verständlich zu sein, im organischen Zusammenhang in der Originalarbeit eingesehen werden. Schaffnit (Bromberg).

Hollrung, Jahresbericht über das Gebiet der Pflanzenkrankheiten unter Mitwirkung von O. v. Czadek-Wien, H. Diedicke-Erfurt, G. Köck-Wien, E. Küster-Halle a. S., W. Lang-Hohenheim, E. Molz-Geisenheim, E. Reuter-Helsingfors, A. Stift-Wien, Br. Wahl-Wien. Bd. IX. 1906. 298 p. Berlin (P. Parey) 1908.

Die Herausgabe des IX. Bandes des Jahresberichtes: „das Jahr 1906“ hat sich infolge einer langwierigen Erkrankung des Herausgebers und anderer Hemmnisse so lange verzögert.

Der vorliegende Jahresbericht schließt sich in Form und Inhalt im wesentlichen den vorangegangenen Berichten an und weicht nur insofern von ihnen ab, als Veröffentlichungen, die bekannte Tatsachen wiederholen und keine neuen Gesichtspunkte enthalten, in dem Literaturverzeichnis keine Aufnahme fanden.

Aus der Mitarbeiterschaft schieden Braun, Fabricius und Tarrach aus, an ihre Stelle trat der Berichterstatter.

H. gibt in dem Vorwort seinem Bedauern Ausdruck, daß die inländischen Autoren im Gegensatz zu denen des Auslandes seine mühevolle Arbeit so wenig durch Zusendungen von Sonderabdrücken erleichtern, was im Interesse des Berichtes und der Arbeit gewiß wünschenswert wäre. Schaffnit (Bromberg).

Appel, O., Beispiele zur mikroskopischen Untersuchung von Pflanzenkrankheiten. 2. verm. u. verb. Aufl. Mit 63 Textfig. Berlin (Jul. Springer) 1908.

Das erste Kapitel behandelt die wichtigen Pilzkrankheiten der Kulturpflanzen, wobei auch die Bekämpfungsmethoden erläutert werden. Das zweite befaßt sich mit den durch Tiere hervorgerufenen Krankheiten der Kulturpflanzen. Die Abbildungen sind recht schön. Verf. hat den behandelten Stoff in ähnlicher Weise in H. Hagers Werk: Das Mikroskop und seine Anwendung (10. Aufl.) veröffentlicht.

Matouschek (Wien).

Slaus-Kantschieder, S., Ueber die seitens der k. k. landwirtschaftlichen Lehr- und Versuchsanstalt in Spalato im Jahre 1907 beobachteten Pflanzenschädiger. (Zeitschr. f. das landwirtschaftl. Versuchswesen in Oesterreich. Jahrg. XI. 1908. p. 309.)

Auf der Insel Lesina schädigte im Juni Eumolpus vitis stark Weinstöcke. Zur selben Zeit vernichtete der Erdflohkäfer (Baridius cuprirostris) junge, bereits pikierte Pflänzchen von Kohl und Kohlrabi in einigen Gemüsegärten von Spalato, wobei Vernichten der beschädigten Pflanzen, Ausstreuen von Aetzkalkpulver und Fruchtwechsel als Vorbeugungsmittel angegeben wurden. Auf zwei Maulbeerbäumen wurde Mitte Juni das Auftreten von Diaspis pentagona konstatiert, wobei die Invasion eine sehr starke war. Die Bäume wurden sofort gefällt und verbrannt. Die Larven von Galerucella luteola skelettierten Ulmenblätter bis auf die Blattnerven. Die Rebe blieb, abgesehen von der zunehmenden Verbreitung der Reblaus, von Krankheiten und Parasiten fast gänzlich verschont, da nur sporadisch anfangs Juni Peronospora und Cochylis ambiguella auftraten. Ebenfalls sporadisch ist die Olivenfliege aufgetreten. Stift (Wien).

v. Stürler, F. A., Nederlandsch Oost-Indische Cultur-gewassen, hunne kenmerken, teelt en bereiding. 21 Bilder und 100 Textfiguren. Tiel (A. van Loon) 1906.

Verf. hat dem Bedürfnis nach einer kurzgefaßten Zusammenstellung der indischen Kulturpflanzen, ihrer Kultur und Verwertung durch sein Buch abgeholfen.

Die erste Abteilung handelt über die allgemeine Kultur der Gewächse (Entstehung der Böden), sowie über das Klima und seinen Einfluß auf den Pflanzenwuchs, dann über die vorbereitenden Arbeiten auf einer Pflanzung, Düngung, Brache, Fruchtwechsel und Veredeln der Pflanzen. Die zweite Abteilung ist der speziellen Kultur und Verwendung der Pflanzen gewidmet. Hierbei werden die verschiedenen auf Java und Sumatra kultivierten Pflanzen sowie ihre Zubereitung für den Handel geschildert. Viele gut gelungene photographische Aufnahmen und Textbilder ergänzen den leicht faßlich verarbeiteten Stoff in würdiger Weise. v. Faber (Berlin).

Winkler, Reiseberichte aus den Malayischen Staaten und Niederländisch-Indien. (Tropenpflanzer. 1908. Heft 8.)

Ueber die Krankheiten und Schädlinge an Hevea brasiliensis teilt Verf. mit, daß auf der malayischen Halbinsel die weißen Ameisen am lästigsten sind, die von der Wurzel her in die Stämme eindringen, sie völlig aushöhlen und mit Erdnestern ausbauen. Verf. meint jedoch, daß vielleicht eine Pilzerkrankung und nicht die tierische Zerstörungsarbeit das Primäre bei der Schädigung ist. Weiter bespricht er einen in der Rinde von Hevea wuchernden Pilz und die als „Peas" bezeichneten holzigen Wucherungen in der Rinde, von denen es noch ungewiß ist, ob sie die Folge von Verwundungen, etwa durch Insekten, sind, oder sich durch Verwendung von Samen der derartig kranken Bäume vererben. Jedenfalls können diese, mit dem Holzkörper nicht in Verbindung stehenden Wucherungen das Zapfen der Bäume stark erschweren. Ehrenberg (Breslau).

Henry, E., La maladie du sapin dans les forêts du Jura. (Compt. rend. Acad. Sc. Paris. T. CXLV. p. 725—727.)

Die unter den Namen „Maladie du sapin du Jura" bekannte Krankheit der Tannen, die durch Phoma abietina verursacht wird, scheint daselbst einen ähnlichen Verlauf zu nehmen wie in den Vogesen, wo dieselbe im Jahre 1887 zuerst beobachtet wurde. Im folgenden Jahre gewann sie ihre größte Ausbreitung, um darauf in den Jahren 1889 und 1890 abzunehmen und vollständig zu verschwinden. Es konnte nicht konstatiert werden, daß Bäume durch den Pilz getötet worden waren. Praktische Bekämpfungsmittel der Krankheit sind nicht bekannt.

H. Sydow (Schöneberg-Berlin).

v. Tubeuf, Die Nadelschütte der Weymouthskiefer. (Naturwissenschaftl. Zeitschr. f. Forst- und Landwirtschaft. 1908. Heft 6.)

Nach Erwähnung einiger der gefährlichsten Feinde der Weymouthskiefer unter den Pilzen bespricht Verf. das Auftreten eines Verwandten des an unserer einheimischen Kiefer so verderblichen Schüttepilzes bei der Weymouthskiefer, das bisher nur in Dänemark ernsten Charakter angenommen hat. Nachdem Verf. mehrere Stellen in Deutschland, wo der Schädling bisher beobachtet wurde, namhaft gemacht, bittet er um Mitteilung über diesbezügliche Beobachtungen und Materialeinsendung an die botanische Abteilung der forstlichen Versuchsanstalt München, Amalienstraße 67.

Ehrenberg (Breslau).

Cholodkovsky, N., Die Koniferenläuse Chermes, Feinde der Nadelhölzer. 44 pp. 6 Taf. Berlin (R. Friedländer & Sohn) 1907. 3 M.

Eine Monographie aller bis jetzt in Europa und im ganzen russischen Reiche gefundenen Chermes-Arten. Es sind im ganzen 11:

1) Chermes viridus Ratz., mit sexuellen und parthenogenetischen Generationen auf Fichte und Lärche.

2) Ch. abietis Kalt., ohne Migration, parthenogenetisch auf Fichte.

3) Ch. strobilobius Kalt. mit sexuellen und mehrfältigen parthenogenetischen Generationen auf Fichte und Lärche.

4) Ch. lapponicus Cholodk., ohne Migration, parthenogenetisch auf Fichte.

5) Ch. viridanus Cholodk., ohne Migration, parthenogenetisch auf Lärche (nur in Rußland).

6) Ch. coccineus Cholodk. mit sexuellen und mehrfältigen parthenogenetischen Generationen auf Fichte und Weißtanne.

7) Ch. funitectus Dreyf., auf denselben Bäumen, noch ungenügend bekannt.

8) Ch. piceae Ratz., auf Weißtannenrinde, noch unzureichend bekannt.

9) Ch. sibiricus Cholodk., sexuell und parthenogenetisch auf Fichte und Arve.

10) Ch. orientalis Dreyf., auf Fichte und Kiefer, noch nicht völlig bekannt.

11) Ch. pini Koch (= Ch. strobi Hart.), nur zeitweise in 4—5-jährigen Flugjahren auf Fichten, meist parthenogenetisch auf Kiefern.

Von letzterer Art wird eine neue, aber nicht beschriebene Varietät angegeben: var. pineoides Cholodk., auf Fichtenrinde schwächlicher, stark beschatteter Bäume. Wo zwei Koniferen angegeben werden, be-

deutet die zweite stets die sogenannte Zwischenkonifere, die von den Migranten aufgesucht wird. Geschlechtliche Generationen fallen dort weg, wo eine Migration auf Zwischenkoniferen nicht stattfindet.

Die Schädigungen werden in 3 Kategorien eingeteilt:

1) Die Gallenbildungen, sehr schädlich, bekannt bei Ch. abietis.

2) Das Saugen auf der Rinde, nicht gefährlich.

3) Das Saugen auf den Nadeln der Zwischenkoniferen, sehr wenig schädlich.

Abwehrmittel. 1) Abschneiden der Gallen. 2) Zerdrückung der durch ihre weiße Wolle im Frühjahr leicht auffallenden Stammütter mit einem Pinsel, der in Kreosinemulsion oder Terpentinöl getaucht wird. 3) Beräucherung der im Winterzustande befindlichen Bäume mit Hydrocyangas. Diese Methode wird genau erläutert, da sie zugleich recht gefährlich ist. Matouschek (Wien).

Fron, M. G., Note sur le Micropera abietis Rostr. (Bull. soc. mycol. France. T. XXIV. 1908. p. 169—171. Mit 1 Fig.)

Genaue Beschreibung des zuerst von Rostrup in Dänemark entdeckten, vom Verf. im Jura beobachteten Pilzes. Da die französischen Exemplare des Pilzes von den dänischen in einigen Merkmalen abweichen, war eine Ergänzung der Diagnose notwendig. Infektionsversuche, welche der Verf. mit dem Pilz anstellte, verliefen erfolglos.

Neger (Tharandt).

Neger, F. W., Das Tannensterben in sächsischen und anderen deutschen Mittelgebirgen. (Tharandter forstl. Jahrb. Bd. LVIII. p. 201—225. Mit 3 Taf. und 2 Textfig.)

Im weiteren Verlauf der Untersuchung, über welche schon früher an anderer Stelle berichtet worden war, ergab sich, daß die letzte Ursache der Krankheit auf eine eigentümliche Art des Parasitismus von Agaricus melleus zurückzuführen ist. Die Pfahlwurzel der Tanne wird nämlich von Hallimasch-Rhizomorphen eng umsponnen, welche an zahlreichen Stellen Appressorien bilden und senkerartige Haustorien in die Rinde entsenden. Die flachstreichenden Wurzeln der Tanne wie auch das flache Wurzelsystem nebenstehender Fichten bleibt vorerst von dem Angriff des Hallimasch verschont.

Faktoren, welche die Hallimaschinfektion begünstigen, sind:

a) Rauchbeschädigungen.

b) Stocken des Transspirationsstromes, wahrscheinlich infolge ungenügender Saugkraft der Krone. Die Lichtung der Krone dürfte in vielen Fällen die Folgeerscheinung von Trockenjahren sein; parasitäre Nadel- oder Zweigpilze kommen sicher nicht in Betracht.

Mit der Stockung des Transspirationsstromes hängt ohne Zweifel auch zusammen eine eigentümliche, an kranken Tannen sehr verbreitete Erscheinung der Bildung eines „Naßkerns" im Stammanlauf.

c) Mangelhafter Lichtgenuß der Krone (Mischbestand mit Fichte).

Das Tannensterben wurde bisher hauptsächlich in Sachsen (Elbsandsteingebirge und Erzgebirge) beobachtet, neuerdings tritt es auch in Thüringen, im Schwarzwald und sogar im Schweizer Jura auf. Mischbestände von Tanne und Buche, welche der Tanne die am meisten zusagenden Vegetationsbedingungen gewähren, waren bisher von der Krankheit meist verschont. Vereinzelt tritt sie nun auch in derartigen Mischbeständen auf. Neger (Tharandt).

Zimmermann, A., Untersuchungen über das Absterben des Nadelholzes in der Lüneburger Heide. (Zeitschr. f. Forst- und Jagdwesen. Jahrg. XL. 1906. Heft 6. p. 357—391. Mit 1 großen Tafel.)

Die bisherige Holzproduktion auf weiten Gebieten der Heide muß quantitativ und qualitativ als ungenügend bezeichnet werden. Der Grund hierfür liegt in der wohl allseits bekannten, in ihren Ursachen und Zusammenhängen aber noch gänzlich unaufgeklärten Krankheit, welche als „Nadelholzsterbe" bezeichnet wird. Nach einer in der Regel normalen Jugendentwickelung treten im früheren oder späteren Stangenholzalter Wurzelstockungen ein, gefolgt von einem stetig zunehmenden Absterben einzelner Individuen und ganzer Horste. Lange vor Erreichung eines normalen Alters pflegen die Bestände derart gelichtet zu sein, daß Abtrieb oder Unterbau erfolgen muß. Die Kiefer insbesondere leidet an dieser Krankheit. Die Nadelholzsterbe ist im Gegensatze z. B. Agaricus melleus, der den plötzlichen Tod der befallenen Pflanzen verursacht, eine schleichende Krankheit, die meist nicht das ganze Wurzelsystem zugleich angreift, sondern nach und nach einzelne Teile befällt, wodurch aber keineswegs stets ein Absterben des befallenen Baumes erfolgt. Verloren gegangene Wurzelteile werden durch Neubildung oft ersetzt, so daß die Kiefer gegen die Krankheit einen langjährigen Kampf führen kann. Gegenüber der Ansicht Erdmanns muß Verf. konstatieren, daß das Uebel stets von der Wurzel ausgeht. Die Krankheit ist mit der im Osten auf aufgeforsteten Ackerländereien vorkommenden „Krankheit der sogenannten Ackertannen" identisch. Beide Krankheiten bezeichnet man häufig mit dem Sammelnamen „Wurzelfäule". Die Krankheit ist von der Mineralkraft und dem physikalischen Zustande des Bodens ganz unabhängig, und dadurch erscheint das Wesen der Nadelholzsterbe nur noch rätselhafter. Es bleiben zwei Möglichkeiten übrig: 1) Entweder gibt es in den Waldböden Kleinlebewesen, die die Kiefernwurzeln vor der Nadelholzsterbe schützen, oder aber 2) es gibt in den Nichtwaldböden Mikroorganismen, welche die Wurzeln bestimmter Holzarten angreifen und deren Virulenz durch den Anbau der letzteren erhöht wird. Weiter wäre denkbar, daß durch die Mikroorganismen dem Polyporus annosus, dessen Mycel wohl immer an den erkrankten Wurzeln zu finden ist, der Angriff der lebenden Wurzel erst ermöglicht wird. Daß dieser Pilz, obwohl er auf allen echten Waldböden regelmäßig auftritt und sich hier nach A. Möller doch nur als Saprophyt zu betätigen scheint, auf dem Nichtwaldboden den gefährlichen Charakter annimmt, fände so seine Erklärung. Für die Praxis ergibt sich, daß die Kiefer die ungeeignetste Holzart für Neuaufforstungen auf der Heide ist; zuerst muß ein Waldboden für sie geschaffen werden, und dies ist nur möglich, wenn solche Holzarten (Laubhölzer) zuerst gebaut werden, welche immun gegen die Wurzelfäule sind. Solche Bäume sind: Buche, Hainbuche und Eiche. Verf. empfiehlt aber auch die Douglasie; sie wird sicher in der kommenden Zeit in der Heide eine wichtige Rolle spielen, da auch sie immun ist.

Matouschek (Wien).

Mackenzie, M. und **Maxwell-Lefroy, H.,** The sugar cane borers of Behar. (Agric. Journ. of India. Vol. III. Part. 2. 1908. p. 104.)

Die interessante Arbeit handelt von drei Gruppen schädlicher Motten,

deren Larven den Stamm des Zuckerrohrs entweder von der Endknospe aus nach unten, von der Seite aus, oder die Wurzel durchbohren.

Zu der ersten Kategorie (shoot-borers) gehören zwei weiße Motten, Scirpophaga auriflua, S. monostigma, von denen die letztere auf den Vorderflügeln einen schwarzen Punkt besitzt. S. auriflua kommt häufiger vor und verursacht mehr Schäden als S. monostigma; nicht selten werden 80 Proz. des Zuckerrohrs von ihr befallen.

Die erkrankten Pflanzen sterben von der Endknospe aus ab. Zur Bekämpfung wird empfohlen:

1) Töten der auf der Pflanze vorkommenden Motten;
2) Absuchen und Vernichten der Eier;
3) Ausschneiden und Verbrennen der befallenen Teile.

Die natürlichen Feinde, Wespen (Braconidae und Ichneumonidae), welche ihre Eier in die Larven der Motten ablegen, sind zu schonen.

Von der zweiten Kategorie (Side-borers) sind bekannt geworden Chilo simplex, Chilo auricilia, Nonagria uniformis und Anerastia ablutella. Diese Schmetterlinge kommen nicht so zahlreich vor als Scirpophaga auriflua, sind aber trotzdem gefährliche Schädlinge des Zuckerrohrs. Chilo kommt außer auf Zuckerrohr auch auf Mais, Sorghum und Reis vor, auf denen sie überwintert. Nonagria uniformis befällt ebenfalls Reis, Mais und Sorghum, und fügt diesen Pflanzen mehr Schaden zu als dem Zuckerrohr. Anerastia ablutella wurde nur auf einer Varietät des Zuckerrohres, Langura genannt, vorgefunden.

Der Wurzelbohrer (Root-borer), Polyocha saccharella, ist wohl der schädlichste unter allen Bohrern, kommt aber glücklicherweise nicht so häufig vor wie Scirpophaga auriflua. Die befallenen Pflanzen verdorren innerhalb kurzer Zeit. Zur Bekämpfung empfiehlt es sich, die erkrankten Stämme zu verbrennen.

Verff. geben zuletzt eine übersichtliche Tabelle von den Entwickelungsstadien und den verschiedenen Wirtspflanzen der Bohrer. Eine schematische Darstellung der verschiedenen Bohrgänge im Zuckerrohr dient dazu, die interessanten Ausführungen zu illustrieren.

v. Faber (Berlin).

Fulton, H. R., The root disease of sugar cane. (Louisiana Stat. Bull. No. 100.)

Verf. beschreibt eine von Marasmius plicatus verursachte Wurzelkrankheit des Zuckerrohrs. Der Pilz scheint nur auf dieser Pflanze parasitisch zu leben, während er auf anderen nur saprophytisch auftritt. Da die Sporen nur unter ganz günstigen Bedingungen gebildet werden, glaubt Verf., daß die Verbreitung des Pilzes durch Mycel stattfindet. Die Wurzeln werden befallen und gänzlich zerstört. Als Vorbeugungsmittel empfiehlt Verf. sorgfältige Kultur, Selektion und Desinfektion der Saat, Verwendung von widerstandsfähigen Varietäten und Vernichten der befallenen Pflanzen. v. Faber (Berlin).

van der Stock, J. E., Verschynselen van tusschenrasvariabiliteit by het suikerriet. Proeve eener verklaring der gele-strepenziekte en der serehziekte. (Arch. Java-Suikerindustrie. Afl. XI. 1907. p. 457—477.)

Verf. behandelt in seiner Arbeit zwei beim Zuckerrohr vorkommende Anomalien, die bis jetzt als Krankheitserscheinungen angesehen wurden. Es sind dies die „Gelbe-Streifen-" und die „Serehkrankheit". Infektionsversuche früherer Untersucher, sowie diejenigen, die Verf. selbst ausgeführt hat, haben für beide Fälle immer negative Resultate ergeben. Van der Stock kommt deshalb zu der Anschauung, daß es sich hier nicht um eine Krankheit, sondern um eine Erscheinung handelt, wie sie auch bei den Zwischenrassen beobachtet wird. Pflanzen, welche die „Gelbe-Streifen-" oder die „Serehkrankheit" zeigen, sind nach Verf. als Individuen einer Zwischenrasse, welche das Varietätsmerkmal aufweist, zu betrachten; die normalen Pflanzen dagegen zeigen das antagonistische Artmerkmal. Eine Stütze seiner Theorie sieht Verf. darin, daß Buntblätterigkeit bei der „Gelben-Streifen-" und der Zwergwuchs bei der „Serehkrankheit" von äußeren Faktoren abhängig ist, und daß diese Varietätsmerkmale von günstigen Wachstumsbedingungen gefördert werden; ihr Auftreten ist auch von einem periodischen Gesetz abhängig.

v. Faber (Berlin).

van Deventer, W., Handboek ten dienste van de suikerrietkultuur en de rietsuiker-fabricage op Java. Teil II: De dierlijke vijanden van het suikerriet en hunne parasiten. Amsterdam (J. H. de Bussy) 1906.

Verf. hat sich durch diese umfassende übersichtliche Zusammenstellung der tierischen Schädlinge des Zuckerrohrs ein großes Verdienst erworben. Obwohl von Zehntner, Krüger, Kobus u. a. bereits der größte Teil der tierischen Parasiten untersucht und publiziert wurde, kommen doch noch viele weniger gefährliche Schädlinge auf dem Zuckerrohr vor, die bis jetzt noch unbeschrieben geblieben sind, oder deren Beschreibungen für den Pflanzer unzugänglich waren. In seiner Arbeit hat Verf. systematisch alle bis jetzt bekannt gewordenen tierischen Feinde des Zuckerrohrs behandelt. Die Bekämpfung der Parasiten ist ausführlich berücksichtigt worden. Die Abbildungen, die zum größten Teil von Zehntner stammen, sind naturgetreu und erleichtern die Identifizierung der betreffenden Schädlinge.

Das Werk ist zur Zeit das zusammenfassendste auf dem Gebiete der tierischen Zuckerrohrparasiten, und jedem, der sich damit befaßt, sehr zu empfehlen.

v. Faber (Berlin).

Thomann, H., Untersuchungen über das Auftreten der Weißährigkeit bei Wiesengräsern in der Umgebung von Landquart. (Landwirtschaftl. Jahrb. der Schweiz. Bd. XXII. 1908. p. 254.)

Die Weißährigkeit der Wiesengräser wurde in der Schweiz bis jetzt nicht näher untersucht; in Finnland fand diese Krankheitserscheinung dagegen eine eingehendere Bearbeitung durch E. Reuter.

Die vorliegenden Beobachtungen über die Erreger und die Verbreitung der Weißährigkeit in der Umgebung von Landquart (Kanton Graubünden) beschränken sich allerdings auf einen kleinen Zeitraum und auf ein kleines Gebiet und erheben deshalb keinen Anspruch auf Vollständigkeit.

Weißährige Blütenstände unterscheiden sich gewöhnlich schon vor der Blütezeit durch gelblich-weiße Färbung, trockene Beschaffenheit und

verkümmerte Fruchtknoten von normalen. Von 258 untersuchten weißährigen Halmen konnte bei 151 kein Schädling gefunden werden; in 106 Fällen bezeichnet Verf. Tiere (besonders Aptinothrips, Tarsonemus, Oscinis, Mayetiola und seltener Pediculoides) und in einem Falle Bakterien als Urheber.

In bezug auf die letzterwähnte Krankheitsursache möchte Ref. doch darauf hinweisen, daß aus dem Verhandensein einer schleimigen Bakterienmasse in der Höhlung eines abgestorbenen, weißährigen Halmes nicht ohne weiteres gefolgert werden darf, die Bakterien seien hier die Urheber der Weißährigkeit. Schneider-Orelli (Wädenswil).

Kawamura, S., Ueber die Flecken- und Buntbambuse. (The Journal of the College of Science, Imperial University Tokyo. Vol. XXIII. 1907. Article 2.)

Bei der einen Gruppe solcher Bambuse konnte man bisher keinen Pilz bezw. keinen tierischen Organismus als Urheber der schönen Zeichnungen nachweisen, man hat es also mit Rassencharakteren zu tun. Bei der anderen Gruppe ließen sich Pilze nachweisen. Hennings beschrieb schon die Wirkung des Pilzes Micropeltis bambusicola eingehend und Verf. fand auf dem Tigerfleckenbambus (Arundinaria Narihira Mak.) eine neue Pilzgattung, Miyoshia fusispora Kaw., welcher auf den Flecken Luftmycelien bildet, welche Konidien abschnüren, oder es entstehen im Innern der Flecke Perithecien mit Asken, die dem Baue nach solchen Schlauchpilzen ähneln. Der Tigerfleckenbambus ist für den Japaner der wertvollste. Matouschek (Wien).

Ludwig, F., Noch einige nachträgliche Bemerkungen über die Helleborus-Parasiten. (Zeitschr. f. wissenschaftl. Insektenbiologie. Bd. IV. 1908 [der ersten Folge Bd. XIII]. Heft 3. p. 102—103.)

An Helleborus foetidus bemerkte Verf. als starken Schädling Phytomyza Hellebori, welche in den Blättern im Larven- und Puppenstadium Kälte bis —17° C im Freien überstanden hat. Wurden die sämtlichen befallenen Teile dieser Helleborus-Art vernichtet, so trat der Schädling auf Hell. viridis und H. niger auf. Es trat auf Helleborus foetidus aber auch ein Coniothyrium auf, das auf diesem Wirte bisher noch nicht bekannt war. In der Literatur werden Coniothyrium-Arten nur von Helleborus niger, viridis und Olympicus beschrieben. Matouschek (Wien).

Köck, G., Phyllosticta cyclaminis auf Cyclamen persicum und Septoria lycopersici auf Solanum lycopersicum. (Zeitschr. f. d. landwirtschaftl. Versuchswesen in Oesterreich. Jahrg. VIII. 1907. p. 572.)

In letzterer Zeit traten die oben genannten Pilze in Oesterreich recht häufig auf und die angerichteten Schäden waren recht ansehnlich. Die bisher angewendeten, in der Literatur verzeichneten Bekämpfungsmittel gegen die Schädlinge werden vom Verf. zusammengefaßt.

Matouschek (Wien).

Cruchet, Paul, Note sur deux nouveaux parasites du Polygonum alpinum L. (Bulletin de l'herbier Boissier. Sér. 2. T. VIII. 1908. No. 4. p. 245—247. Mit Textfiguren.)

I. In den Walliser Alpen (Tal Gries in Oberitalien 1900 m) fand Verf. eine neue Art auf Polygonum alpinum, die er Puccinia Polygoni alpini Cruchet et Mayor nennt. Diese Uredinee unterscheidet sich von P. septentrionalis durch dunklere und weniger warzenförmige Teleutosporen, von P. Cari-Bistortae Kleb. und P. Polygoni vivipari Karst. durch scharf modellierte Warzen, von P. monticola Korn aus Turkestan durch die Form der Teleutosporen. Die Uredo- und Teleutosporen werden abgebildet.

II. 100 m höher war dieselbe Polygonum-Art von zwei Ustilagineen befallen. Die eine Art beschrieb in Annales mycologici, Vol. V. 1907. No. 5 als Sphacelotheca alpina der Forscher H. C. Schellenberg. Die zweite Art ist von der ersten ganz verschieden und als Sphacelotheca Polygoni alpini Cruchet n. sp. beschrieben.

Matouschek (Wien).

v. Tubeuf, Karl, Ueber die Zellgänge der Birke und anderer Laubhölzer. (Naturwissenschaftl. Zeitschr. f. Forst- und Landwirtschaft. Jahrg. VI. 1908. Heft 4. p. 235—241. Mit 4 Abbildungen.)

Darstellung des Entwickelungszyklus von Agromyza carbonaria Zett., des Urhebers der so häufigen Zellgänge. Die Eiablage erfolgt wohl in den Lentizellen des unteren Stammteiles. Die Larven ernähren sich von den Zellen des Kambiums und Jungzuwachses zur Zeit der Jahrringbildung und leben in den selbst erzeugten Gängen bis Ende August, auf dem Vogelbeerbaume aber bis Ende September. Der Stockabschnitt und die obere Partie des Wurzelsystems sind der Lieblingsaufenthaltsort der Larven; doch kommen sie in 10 m Höhe und darüber im Stamme vor. Durch Lentizellenpartien und manchmal durch das dünne Periderm der Wurzelläufe gelangen die Larven heraus; vom oberen Stammteile lassen sie sich zu Boden fallen. J. C. Nillsen gelang es, das Ausbohren der Larven direkt zu beobachten und die Imago aus den überwinterten Puppen (Tönnchenpuppen) zu züchten. Anfangs Mai entwickelt sich die Imago.

Zellgänge wurden bisher an Arten von Betula, Alnus, Corylus, Crataegus, Salix, Sorbus, Prunus, Populus gefunden. Die Entwickelung der die Gänge ausfüllenden Zellen haben Kraus und Kienitz genau verfolgen können.

Matouschek (Wien).

Schreiner, J., Eurytoma sp., ein neuer Feind der schwarzen Zwetschge und der Reineclaude. (Zeitschr. f. wiss. Insektenbiologie. 1908. Heft 1. p. 26.)

Das Insekt (wahrscheinlich eine neue Species von Eurytoma) legt im Frühjahr mit seinem Legebohrer je ein Ei in eine Zwetschge oder Reineclaude. Die aus dem Ei schlüpfende Larve durchbohrt die Steinwand und nährt sich vom Inhalte des Steines. Mitte Juli ist sie ausgewachsen, die befallene Frucht fällt vom Baume ab. Die Larve bleibt den Winter über in der vertrockneten Frucht und verwandelt sich dann zur Puppe, im Mai ist die Imago fertig. Der Entwickelungszyklus dauert also ein volles Jahr. Verf. beobachtete den Schädling in den Gärten von Astrachan, wo er im Sommer 1904 nicht geringen Schaden verursachte.

Eichinger (Halle a. S.).

Salmon, E. S., Cherry Leaf-Scorch (Gnomonia erythrostoma). (Journal of the Board of Agriculture. Vol. XIV. 1907. p. 334—344. With 4 figures.)

Verf. beschreibt ausführlich die Entwickelung von Gnomonia erythrostoma. Die von dem Pilze befallenen Blätter bleiben auffallenderweise den Winter über am Baume hängen. Um den Pilz wirksam zu bekämpfen, müssen im Winter alle befallenen Blätter vom Baume entfernt werden und Spritzungen mit Bordeauxbrühe kurz vor und nach dem Blühen vorgenommen werden. H. Sydow (Schöneberg-Berlin).

Istvánffi, Gy., Adatok a gyümölcsfák Monilia betegségének ismeretéhez. [Beiträge zur Kenntnis der Moniliakrankheit der Obstbäume.] (A m. kir. szőlészeti kisérleti állomás és ampelologiai intézet évkönyve. I. évf. 1906. [1907]. p. 83—97.]

Als Ursache dieser verbreiteten Krankheit wird dauernder Nebel, tiefe Lage des Obstgartens und Verschiedenheit der Blütezeit angegeben, welche Umstände die Vermehrung des Pilzes und dessen Infektionsfähigkeit wesentlich begünstigen. Die Infektion der Blüte erfolgt im Frühling durch das in den Knospen überwinterte Mycelium oder durch die Sporen selbst; es ist jedoch die Ueberwinterung des ersteren auch in lebenden und trockenen Zweigen und älteren Aesten möglich. Das auf Knospen, Aesten und nassen Substraten aufgetretene Mycelium kann durch Reinkulturen weitergezüchtet werden, und treten die blasigen Zellen öfters traubenförmig auf den Fäden auf, welche Erscheinung bisher nicht beobachtet wurde. Die erwiesene Art der Infektion erfordert eine entsprechende Bekämpfungsweise, die sich hauptsächlich auf eine tiefe Zurückschneidung der Aeste erstreckt, die unbedingt desto schneller nach dem Abblühen der Bäume (die Versuche erstreckten sich meist auf Weichselbäume) erfolgen muß. Die Infektion der Aeste muß selbst durch Aufopferung der sich bildenden Frucht verhindert werden. Bei starker Infektion folgt der Erkrankung Gummifluß, wodurch die verwelkten Blüten und Blätter nicht abfallen, sondern an den Zweigen angeklebt bleiben. Für die Monilia-Krankheit der Weichsel ist die Bildung von Gummitaschen charakteristisch, denen später Krebswunden folgen.

Nach einer ausführlichen Beschreibung der Erkrankungsarten der Triebe, der Blüteninfektion und Infektionsweisen überhaupt befaßte sich Autor auch eingehend mit der Erkrankungs- und Zerstörungsweise der Blätter, dem Verhalten der beiden Pilze (M. cinerea und fructigena) in Reinkulturen (bei letzteren bildeten sich auch Mikrokonidien und Sklerotien) und der Verbreitungsart der Sporen durch Insekten und Nagetiere und deren Exkremente.

Bezüglich der Lebens- und Widerstandsfähigkeit der Moniliasporen verweise ich auf mein Referat in Bd. XI. p. 584 u. f. dieser Zeitschrift, wo die diesbezüglichen Versuchsresultate des Autors schon angeführt wurden und die Wirkung einzelner Bekämpfungsmittel auch erörtert wurde. Die fraktionierte Bekämpfung ist hier sehr am Platze. Laut ausgeführten Orientierungsbekämpfungsversuchen könnte der ideal vollkommenen Bekämpfung der Krankheit folgender Plan zugrunde liegen:

1) Frühe Frühjahrsreinigung der Bäume und Obstgärten; Ausstreuung von Eisenvitriol; Aufgraben; Abwaschung der Stämme mit starken Bekämpfungsmitteln und Bespritzung der Krone. (Letztere erfolgt mit Anwendung einer 3-proz. Kupfervitriol-, gleichstarker neutralisierten essigsauren Kupfer- oder 5-proz. Calciumbisulfatlösung.)

2) Abwaschung des Baumstammes und der älteren Aeste und Bespritzung der Krone vor dem Austreiben der Knospen oder

3) Bestäubung nach derselben.

4) Bespritzung während oder vor der Blüte (Anwendung einer 1-proz. Bordelaiser Brühe, Calciumbisulfits oder $^1/_2$-proz. essigsauren Kupfers).

5) Zurückschneiden der krankhaften Aeste; Reinigung des Baumes und Bodens; Bestäubung.

6) Sammeln des erkrankten Obstes, Baum- und Bodenreinigung, auch Bestäubung zur Zeit der Fruchtreife.

7) Behandlung der Krebswunden während des Sommers; Abschneiden und Verbrennen der vertrockneten Triebe.

8) Gründliche Reinigung und Abwaschung der Bäume laut Punkt 1.

Pósch (Grinád, Ungarn).

Ewert, Einwanderung eines gefährlichen Parasiten der Gurke, Pseudoperonospora cubensis (B. et C.) var. Tweriensis, in Deutschland. (Internationaler phytopathologischer Dienst. Jahrg. I. 1908. Stück 1.)

Verf. stellt das Auftreten eines aus Rußland eingewanderten Parasiten, Pseudoperonospora cubensis (B. et C.) var. Tweriensis, auf der Gurke fest. Die Erkrankung tritt meist bei Beginn des Fruchtansatzes auf und greift mit großer Schnelligkeit um sich. Es wird daher besonders auf die große Infektionsgefahr hingewiesen. Als Symptom der Krankheit wird die Bildung von gelbbraunen, eckigen Flecken auf den Blättern angeführt, auf deren Unterseite ein violettgrauer Schimmelrasen auftritt. Als charakteristische morphologische Merkmale des Pilzes sind hervorzuheben die zwiebelartige Anschwellung der Basis des farblosen Konidienträgers und die violettgraue Farbe der Konidien.

Schaffnit (Bromberg).

v. Schrenk, Hermann, Branch cankers of Rhododendron. (Missouri botanical Garden. Eighteenth Annual Report. St. Louis 1907. p. 77—80. Mit 2 Taf. und 1 Fig.)

Auf den Zweigen von Rhododendron maximum in den Appalachian-Mountains fand Verf. sonderbare Krebsbildungen, die er genau beschreibt und abbildet. Sie sind von Nectria nicht gebildet.

Matouschek (Wien).

Apelt, A., Neue Untersuchungen über den Kältetod der Kartoffel. [In.-Diss.] 47 p. Halle a. S. 1907.

1) Der Erfrierpunkt der Kartoffel fällt mit dem Gefrierpunkte nicht zusammen, sondern liegt deutlich tiefer als letzterer.

2) Die Zuckerbildung in der Kartoffelknolle ist bezüglich der Quantität recht gering, so daß dadurch die bei längerem Kaltliegen der Knollen beobachtete Senkung des Erfrierungspunktes nicht erklärt werden kann.

3) Der Kältetod der Kartoffel ist nicht auf die Eisbildung und die hierdurch bedingte allzustarke Wasserentziehung, sondern auf die Abkühlung bis zu dem für das Plasma tödlichen spezifischen Temperaturminimum im Sinne von Mez zurückzuführen.

4) Eine Erholung beim einmaligen tiefen Abkühlen der Kartoffelknolle unter das spezifische Minimum findet durch eine länger anhaltende Temperatur wenig über dem Erfrierungspunkte nicht statt.

Matouschek (Wien).

Spieckermann, Ueber das Vorkommen von Chrysophlyctis endobiotica Schilb. (Prakt. Blätter für Pflanzenschutz u. Pflanzenbau. Jahrg. VI. 1908. Heft 10.)

Verf. berichtet über eine zum ersten Mal unter abnormen Bodenverhältnissen in Deutschland (Westfalen) auftretende Kartoffelkrankheit, die sich durch blumenkohlartige Auswüchse an den Augen der Knollen kennzeichnet. Im Anfangsstadium haben sie die Form kleiner, warzenförmiger Anschwellungen und werden veranlaßt durch einen Pilz aus der Gruppe der Oomyceten, Chrysophlyctis endobiotica Schilb., dessen Biologie noch wenig erforscht ist. Größere wirtschaftliche Bedeutung hat die Krankheit nach der Ansicht S. nicht, sie tritt nur lokal auf sehr schweren, feuchten Böden bei mangelhaftem Fruchtwechsel und einseitiger Düngung mit Fäkalien, Steinkohlenasche und Kehricht auf.

Zur Bekämpfung wird Lockerung des Bodens, bessere Ernährung der Pflanze, Düngung mit Stallmist, Kunstdünger und Kalkung, sowie sorgfältiges Entfernen und Vernichten der erkrankten Kartoffeln empfohlen.

Die gleiche, auch im Landkreis Düsseldorf auftretende Krankheit („Kartoffelkrebs") behandelt Schneider in der Deutschen landwirtschaftlichen Presse No. 79, 1908. Schaffnit (Bromberg).

Hiltner, Einige Bemerkungen über die Blattrollkrankheit der Kartoffel. (Prakt. Blätter für Pflanzenbau und Pflanzenschutz. VI. 1908. Heft 3.)

Die Befürchtungen des Grafen Arnim-Schlagenthin (Ill. landw. Ztg. No. 10 und Fühl. landw. Ztg. No. 3. 1908), daß durch das Umsichgreifen der Blattrollkrankheit der Kartoffel im Laufe der nächsten Jahre ein großer Ausfall der Kartoffelernte bevorstehe, da in ganz Deutschland keine gesunde Pflanzkartoffel vorhanden sei, sucht Verf., wohl mit Recht, abzuschwächen, und berichtet, daß der Stand der Kartoffeln in Bayern, außer einem Teil der Pfalz, im vergangenen Sommer ein guter gewesen sei. Diese Tatsache erklärt sich durch die günstigen Kulturverhältnisse und Wachstumsbedingungen im vergangenen Jahr. Die Behauptung Appels und des Grafen Arnim-Schlagenthin, daß erkrankte Knollen keine gesunden Knollen mehr erzeugen können, widerlegt Verf. durch die Kultur von krankem Saatgut auf stark kalkhaltigem Boden. Es entwickelten sich wohl kranke Pflanzen, aber durchaus gesunde, wenn auch kleine Knollen. Die Handhabung der Untersuchungsmethode auf Fusariumkrankheit des Saatgutes wird als unzulänglich bezeichnet, da eine mehr oder weniger deutliche Verfärbung des Gefäßbündelringes auch bei gesundem Saatgut eine häufige Erscheinung sei. Bezüglich der hypothetischen Anschauungen, denen Verf. Ausdruck gibt, sei auf das Original verwiesen.

Zur Bekämpfung empfiehlt sich nach den Erfahrungen der Praxis Stallmistdüngung, Kalken, Ausmerzung der kranken Stöcke und Ausdehnungen der Saatenanerkennung auf die Kartoffel. Beobachtungen über die Wirkung einseitiger Düngung mit Mineraldünger auf die Widerstandsfähigkeit der Kartoffelpflanze stehen noch aus.

Schaffnit (Bromberg).

Sorauer, Die angebliche Kartoffelepidemie, genannt die Blattrollkrankheit. (Int. phytopath. Dienst. Jahrg. I. 1908. Stück 2. p. 33—59.)

Im Anschluß an die hier bekannten Publikationen Appels und des Grafen Arnim über den Stand der Kartoffelkrankheiten hebt Verf. in dieser Betrachtung zunächst die Hauptpunkte der von wissenschaftlicher Seite unlängst veröffentlichten Arbeiten hervor, bespricht dann die früheren Beobachtungen, wie sie von seiten Halliers, Reinkes, Franks, Sorauers u. a. vorliegen und vergleicht diese mit den neuesten Studienergebnissen. An die gewonnenen Resultate knüpfen sich dann seine eigenen Beobachtungen und Schlußfolgerungen, aus denen folgendes wiedergegeben ist:

Die Verfärbungen erkrankter Kartoffelknollen, die nach Appel das makroskopische Erkennungszeichen für das Vorhandensein von Fusariumpilzen in dem Gefäßbündelring darstellen, sind nach den mikroskopischen Befunden und mikrochemischen Reaktionen, die Verf. anstellte, nicht sekundäre, sondern primäre Erscheinungen, und werden hervorgerufen durch enzymatische Gleichgewichtsstörungen, deren Zustandekommen noch unbekannt ist, deren Folgeerscheinungen jedoch deutlich in der stärkelösenden und verzuckernden Wirkung zutage treten. Parasiten lassen sich in den verfärbten Stellen zunächst nicht nachweisen, erst mit der fortschreitenden Erkrankung, dem zunehmenden Zuckerreichtum und dem Ueberschuß an gewissen Enzymgruppen, die für die zur Erkrankung disponierten Knollen charakteristisch sind, wird ein günstiger Ansiedelungsboden für Bakterien und Mycelpilze geschaffen. Mikroorganismen siedeln sich daher erst nachträglich, und zwar nicht in allen Fällen an, unter ihnen wohl auch Fusarium-Pilze. Das Hineinwachsen dieses Parasiten aus der Knolle in die Augen kann nach Ansicht des Verf. vorkommen, jedoch nur in seltenen Fällen.

Die Verfärbung und Kräuselung des Laubes sind nach früheren Beobachtungen des Verf. ebenfalls nicht parasitäre, sondern alljährlich wiederkehrende Erscheinungen und hängen mit physiologischen Störungen, bedingt durch Wasserzufuhr, Nährstoffkonzentration, enzymatische Verschiebungen in der Mutterknolle u. dergl. zusammen.

Für das Weiterstudium der Kartoffelkrankheiten hält Verf. die Frage nach dem Reifezustand der als Saatgut verwendeten Knollen und den Einfluß anhaltender Bodennässe auf die Entwickelung der Pflanze für wichtig. Schaffnit (Bromberg).

Sierig, E., Ein Beitrag zur Erforschung der Kartoffelblattrollkrankheit. (Zeitschrift für Spiritusindustrie. Jahrg. XXXI. 1908. p. 415.)

Die Beobachtungen sind bei einem Vegetationsversuch gemacht worden, welchen Verf. zur Erforschung über Fragen der Vererblichkeit der Schorfkrankheit angestellt hat. Die ausgelegten Knollen (Kartoffel „Ella") stammten von einem Vegetationsversuch aus dem Jahre 1907, bei welchem sich zeigte, daß mehrere Töpfe unter der Blattrollkrankheit litten. Für den Versuch 1908 wurden die Töpfe zum großen Teil nur mit einer Knolle besetzt. Da auch der Einfluß des Bodens auf die Schorfkrankheit studiert werden sollte, so wurden zur Beschickung der Töpfe zwei verschiedene Erden — steriler Sand und sandiger Lehm — genommen. Düngung und Bewässerung der Töpfe desselben Bodens waren vollkommen gleich. Bei einer Versuchsreihe wurde das Saatgut $2^1/_2$ Stunden mit Formalin gebeizt. Es hat sich nun gezeigt, daß gesunde Knollen eine völlig gesunde Staude hervorgebracht haben, während sämtliche kranke Knollen ebenfalls wieder ausnahmslos kranke Stauden erzeugten.

Der Boden blieb dabei anscheinend ohne Einfluß, ebenso ferner die Behandlung des Saatgutes mit Formalin. Für die Praxis ergibt sich aus diesem Versuch, daß es sehr wohl möglich ist, durch Auswahl von Knollen gesunder Stauden der Blattrollkrankheit Herr zu werden, oder sie doch erheblich zu beschränken. Hiermit soll aber vorläufig nicht gesagt sein, daß nach einmaliger Auslese die Blattrollkrankheit gleich vollständig beseitigt sein wird; hierzu sind Jahre notwendig, wenngleich auch der Erfolg schon im ersten Jahre ein ganz auffallender sein wird. Auch die Aufbewahrung des Saatgutes über Winter wird hinsichtlich der Widerstandsfähigkeit der einzelnen Knollen nicht ohne Einfluß sein. Je besser das Saatgut durch den Winter kommt, desto stärker werden die aus diesem entstehenden Pflanzen (gleiche Bedingungen vorausgesetzt) feindlichen Anfällen Trotz bieten können. Nach den praktischen Erfahrungen des Verf. hielten sich die Kartoffeln am gesundesten in Mieten, die nicht breiter als 3 Fuß und zur Durchlüftung am Boden mit einem dreiseitigen Gattergestell versehen waren. Der Züchter wird natürlich in der Selektion bedeutend weiter zu gehen haben, denn, während es in der Großpraxis genügt, sämtliche gesunde Stauden einer Sorte zu sammeln, wird der Züchter gut tun, möglichst viel einzelne Stauden getrennt zu halten, da es doch sehr wahrscheinlich ist, daß die Widerstandsfähigkeit der verschiedenen Stauden eine verschiedene ist und diese sich auch in der Vererbung geltend machen wird. Die Versuche sollen in größerem Umfange weitergeführt werden. Desgleichen soll auch geprüft werden, ob Dürre und Nässe oder Boden, auf dem im Jahre 1908 mit Blattrollkrankheit behaftete Kartoffeln standen, fördernden Einfluß auf die Ansteckung gesunder Pflanzen haben. Stift (Wien).

Johnson, T., Spongospora Solani Brunch. (Economic Proceedings Royal Dublin Society. Vol. I. 1908. p. 453—464. Mit 1 Taf.)

Verf. beschreibt einen in Irland häufig auftretenden gefährlichen Parasiten der Kartoffelknollen, den Myxomyceten: Spongospora Solani, welcher verwandt ist mit Ceratiomyxa und Plasmodiophora und mit welchem sich als identisch herausstellte der bisher zu den Ustilagineen gestellte Pilz: Sorosporium scabies.

Bei der Untersuchung ergab sich, daß die Infektion der Kartoffelknollen entweder durch im Boden enthaltene Sporen erfolgt, oder dadurch, daß kranke Kartoffeln gesteckt werden und die Krankheit dann auch auf die neuen Knollen übergreift.

Als die Krankheit fördernde Faktoren werden erwähnt: Mangel an Drainage und schlechte Durchlüftung des Bodens. Zum Schluß macht Verf. Vorschläge zur Bekämpfung der Krankheit: Fruchtwechsel, Behandlung mit Bordeauxbrühe, Beförderung einer Neubildung der Korkschicht an verletzten Kartoffeln. Desinfektion des Bodens durch Schwefel etc., Vernichtung der kranken Knollen etc.

Neger (Tharandt).

Blankinship, Mitteilungen über die Blutungskrankheit und Gelbsucht bei Pappeln. (Zeitschr. f. Pflanzenkr. Bd. XVIII. 1908. Heft 1. p. 26).

Diese Krankheiten treten bei verschiedenen Pappelarten, die als Schattenbäume in Montana angepflanzt sind und künstlich berieselt werden, auf und kennzeichnen sich durch übermäßiges Bluten aus Wunden und Vergilben des Laubes.

Der ausfließende Saft blutungskranker Bäume enthält Bakterien, die zum Teil auf Pappelrindenextrakt wachsen und Reinkulturen liefern. Entscheidende Versuche, ob und welche von diesen Bakterien die Krankheit verursachen, sind noch nicht angestellt. Die Krankheit ergreift allmählich den ganzen Baum.

Die Blätter der von Gelbsucht befallenen Bäume sind mehr oder weniger gebleicht, 3—5 Jahre nach dem ersten Auftreten der Krankheit tritt der Tod der Bäume ein. Die Erkrankung wird durch eine Steigerung des Alkaligehaltes im Grundwasser bedingt. Als Vorbeugungsmittel dient geeignete Drainage, durch welche die Folgen der künstlichen Bewässerung ausgeglichen werden.

Schaffnit (Bromberg).

Brizi, U., Ricerche su alcune singolari neoplasie del Pioppo e sul bacterio che le produce. (S.-A. aus Congresso Naturalisti in Milano 1906. [1907.] 19 pp. 1 Taf.)

Auf Populus alba, nigra und tremula trifft man zuweilen eine Rotzkrankheit, deren Tuberkel bereits auf den Aestchen des Jahres erscheinen und durch jahrelanges Wachstum bis 15 cm Durchmesser erreichen können. Sie entstehen durch beiderseitige Proliferation der Kambialzone infolge einer Wundinfektion durch Bacillus Populi n. sp., der eingehend beschrieben wird. Impfungen mit der Reinkultur waren erfolgreich; das Kerzenfiltrat derselben hatte auf Pappelzweigen keine Wirkung, wohl aber bewirkte es das Absterben breiter Gebiete auf Bohnen- und Kleeblättern. Es enthält zweifellos Giftstoffe, welche aber das Pappelkambium nur zur reichen Proliferation zu reizen vermögen.

E. Pantanelli (Rom).

Bálint, S., A gyökérpenész (Dematophora) tünetei vesszökön. [Wurzelpilzauftreten an Reben.] (A m. kir. szölészeti kisérleti állomás és ampelologiai intézet évkönyve. I. évf. 1906 [1907]. p. 57—58.)

Der Wurzelpilz Dematophora tritt auf Stecklingen, Veredelungen und eingelagertem Rebmaterial auch auf der Rinde auf und kann derselbe durch sein weiteres Eindringen in den Holzkörper denselben ganz zerstören. Pósch (Grinád, Ungarn).

Istvánffi, Gy., A fehér és vörös Delaware szölöfajta tulajdonságai. [Ueber die Eigenschaften der weißen und roten Delaware.] (A m. kir. szölészeti kisérleti állomás és ampelologiai intézet évkönyve. I. évf. 1906 [1907]. p. 174—175.)

In den letzten Jahren wurde die Kultur der weißen und roten Delaware wegen ihrer Widerstandsfähigkeit gegen die Phylloxera vielfach empfohlen, um so mehr, da dieselbe auch vorzüglichen Wein geben soll. Laut einer ministeriellen Verordnung wurde das Institut mit der Ausführung diesbezüglicher Versuche betraut, aus dessen Resultaten hervorgeht, daß diese Sorte, sei es die weiße oder rote Art, eine schwache Widerstandsfähigkeit gegen die Phylloxera besitzt, hingegen von anderen kryptogamischen Krankheiten nicht geschädigt wird. Da nebst anderen ungünstigen Eigenschaften auch die Bewurzelung derselben schwer vor sich geht und der Ertrag weder qualitativ noch quantitativ entspricht, wird dieselbe zur Kultur nicht empfohlen. Pósch (Grinád, Ungarn).

Istvánffi, Gy., Szölöpathologiai jegyzetek. [Rebenpathologische Notizen.] (A m. k. szölészeti kisérleti állomás és ampelologiai intézet évkönyve. I. évf. 1906 [1907]. p. 26—30.)

1) Septosporium Fuckelii trat in den Jahren 1904—1905 auch auf den Beeren, besonders auf Chasselas-Arten vernichtend auf, welche Beobachtung, der auch eine weitere Untersuchung folgte, darum bemerkenswert erscheint, da der Pilz bisher nur auf Blättern beobachtet wurde, welche letztere Erscheinung in diesem Falle der Beereninfektion vorausgeht.

2) Tubercularia acinorum bildet für Ungarn eine neue Rebkrankheit, die jedoch nur auf einer Stelle auf Beeren auftrat.

3) Epicoccum purpurascens und 4) Hendersonia ampelina wurde bei Stridó (Zalaer Komitat) auf Rebenrinde gefunden. Beide unschädlich; ersterer auf Reben neu.

5) Phoma flaccida, 6) Ph. lenticularis und 7) Ph. reniformis kommt sporadisch auf Reben, jungen Trieben und Beeren vor.

8) Morimus tristis wurde als fakultativer Schmarotzer auf grünen Trieben von Riparia Portalis beobachtet. Ein neuer Schädling des Weinstockes. Pósch (Grinád, Ungarn).

Istvánffi, Gy., Ujabb adatok a szölö liszth armatjának kitelelséhez. [Neue Angaben bezüglich der Ueberwinterung des Rebenmehltaues.] (A m. kir. szölészeti kisérleti állomás és ampelologiai intézet évkönyve. I. évf. 1906 [1907]. p. 17—26.)

Im Entwickelungscyklus des Mehltaupilzes Erysiphe Tuckeri zeigt sich auch in Ungarn eine Lücke, nachdem die Perithecienform nicht aufzufinden ist, trotzdem der Rebenmehltau sehr häufig auftritt und in manchen Jahren bedeutende Schäden verursacht. Dieser Umstand und dessen Ergründung führten Autor zu eingehenden Untersuchungen, die schon früher ihrer hochwichtigen pathologischen und praktischen Bedeutung halber die Aufmerksamkeit Appels, Wortmanns, Cubonis und anderer Fachgelehrten und Praktiker erregten und deren neuere Resultate in vorligender Arbeit zusammengefaßt werden.

Vorjährige Pilzfäden entwickeln sich in Gewächshäusern während des Winters weiter; es entstanden Konidienträgen und Konidien, welche letzteren sodann die weitere Infektion der Traubenstrengel, Blätter, Triebe und der Trauben selbst verursachten. Gelegentlich dringt der Pilz auch in die Knospen ein, wo er sich noch im Herbst vermehrt und im Winter weiterentwickelt. Auf diesem Wege entstehen sodann die primären Infektionen im Frühling, deren Ursprung Wortmann nicht eruieren konnte. Ferner wurde noch die Ueberwinterung auf der Martinstraube (an Seitentrieben der Fruchttriebe wachsende Trauben) und auf holzigen, ausgereiften Trieben erwiesen und ermittelt, daß der hauptsächlich in den Knospen überwinternde und sich dann weiterentwickelnde Pilz bei Eintritt wärmerer Tage Konidien bildet, die dann die sekundäre Infektion verursachen, welcher schon bei günstigen Witterungsverhältnissen größere Bestände zum Opfer fallen und somit die desto weitere Verbreitung der Krankheit auch ohne die Ausbildung von Perithecien ermöglicht ist.

Diese Beobachtungen führten zur Erreichung der bisherigen Bekämpfungsarbeiten, und zwar zur Entfernung und Verbrennung der Gipfelreben samt den Martinstrauben, der nach dem Rebschnitt auszu-

führenden Abwaschung des Stockes mit starken Bekämpfungsmitteln und schließlich zur frühzeitigen Aufsuchung und Vernichtung der von der primären Infektion behafteten Triebe. Die Abwaschung der Stöcke geschieht mit Anwendung von Bisulfiten, während bei der üblichen Bestäubung der Schwefelstaub auch mit Natriumbisulfit zu vermengen ist, um die Verbreitung des Pilzes auch bei einer Temperatur unter 17° C zu hemmen, da Schwefelstaub nur bei höheren Wärmegraden eine entsprechende pilztötende Wirkung ausübt. Pósch (Grinád, Ungarn).

Lindau, G., Notiz über das Auftreten der Plasmopara viticola im Kaplande. (Notizbl. d. Kgl. botan. Garten u. Museums zu Berlin-Dahlem. 1908. No. 42. p. 67—68.)

Evans teilt mit, daß der genannte Pilz schon 1906 über ein Areal von 25000 Quadratmeilen in Südafrika ausgebreitet ist. Verf. hält namentlich den Sommerregen für die Ursache der so raschen und großen Verbreitung des Schädlings. Zur Bekämpfung wird insbesondere das Bespritzen mit Bordeauxbrühe empfohlen. Matouschek (Wien).

Bálint, S., Paizstetü a szölön. [Die Schildlaus am Weinstocke.] (A m. kir. szölészeti kisérleti állomás és ampelologiai intézet évkönyve. I. 1906 [1907]. p. 30—31.)

An einigen Stellen trat im Jahre 1904 die Schildlausart Lecanium persicae auf verschiedenen Pflanzen, und hauptsächlich auch auf dem Weinstocke verheerend auf, welche Erscheinung die Ansprucnahme der Versuchsanstalt zur Folge hatte. Die Bespritzung mit Calciumbisulfitlösungen und Bestäubung mit einer Natriumbisulfitmischung lieferte günstige Resultate. Pósch (Grinád, Ungarn).

Busse, Untersuchungen über die Krankheiten der Rüben. (Arb. a. d. Kaiserl. Biol. Anstalt f. Land- u. Forstwissenschaft. Bd. VI. 1908. Heft 3.)

Die Untersuchungen sind von Busse in Gemeinschaft mit v. Faber und Ulrich fortgeführt (vgl. Bd. V. 1907. Heft 6) und umfassen drei Abschnitte.

Im ersten widerlegt v. Faber in gleichem Sinne wie bereits Brzeziński (Ueber die Existenz von Myxomonas Betae Brzez., Zeitschr. f. Pfl.-Krankh. Bd. XVII. Jahrg. 1907. Heft 6) auf Grund seiner Nachprüfungen die Existenz des von Brzeziński entdeckten neuen Parasiten „Myxomonas Betae Brzez.“

Im folgenden Abschnitt berichten Busse und Ulrich über ihre Untersuchungen über die Brauchbarkeit des Scharfschen Keimkraftapparates, welche ergaben, daß sich mit einem einzigen Apparat ebensowenig sichere Resultate erzielen lassen, wie mit einer einzelnen Keimschale. Um entsprechende Resultate zu gewinnen, bedarf es der gleichzeitigen Verwendung mehrerer Scharfschen Apparate, deren Beschaffung infolge der verhältnismäßig hohen Kosten dem Landwirt, Rübenzüchter und selbst den Versuchsstationen in den meisten Fällen nicht möglich ist.

Die gleichen Autoren behandeln im dritten Abschnitt das Vorkommen von Wurzelbranderregern auf der Rübensaat. Es sollte festgestellt werden, ob und in welchem Umfange die Infektion der jungen Rübenpflänzchen von der Rübensaat selbst, d. h. von den ihr anhaftenden Parasiten ausgehen kann und wie weit die im Boden vorhandenen Or-

ganismen dafür verantwortlich zu machen sind. Von den drei als Wurzelbranderreger bekannten Pilzen kommt nur Phoma Betae auf den Rübenknäueln vor. Die sämtlichen untersuchten Rübensaaten waren mit diesen Pilzen infiziert. Der Prozentsatz an erkrankten Pflanzen schwankte bei Zuckerrüben zwischen 16 und 100, bei Runkelrüben zwischen 14 und 100.

Um über das Verhalten der Pflanzen unter natürlichen Bedingungen Aufschluß zu erhalten, wurden mit einigen Zuckerrübensaaten gleichzeitig Versuche in sterilisierter und nichtsterilisierter Erde ausgeführt. Die Befunde legen dar, daß die Zahl der Wurzelbranderkrankungen bei einer und derselben Saat in nichtsterilisierter Ackererde erheblich niedriger war als in sterilisiertem Boden, aus dem Vorhandensein von Krankheitserregern auf dem Saatgut Schlüsse auf ihre Güte zu ziehen, ist also nicht möglich. An erkrankten Pflanzen aus nichtsterilisiertem Boden konnten aus Phoma Betae, Pythium de Baryanum und Aphanomyces laevis (aus dem Boden stammend) nachgewiesen werden.

Schaffnit (Bromberg).

Busse und **Peters**, Ueber die Verminderung der Rübenerträge durch den Wurzelbrand. (Deutsche landw. Presse. 1907. No. 102.)

Leichtere Formen von Wurzelbranderkrankungen sind ganz allgemein auf allen Rübenfeldern wahrzunehmen, „wurzelbrandfreie Zuckerrübenkulturen gibt es in Deutschland überhaupt nicht". Aehnlich liegen die Verhältnisse bei Runkeln. Verff. haben nun durch Versuche festgestellt, daß auch diese leichteren, wieder ausheilenden und oft gar nicht beachteten Fälle zu erheblichen Ernteausfällen führen können. Sie kommen zu dem Ergebnis, „daß durch vorübergehende Wurzelbranderkrankungen oftmals eine erhebliche Ernteverminderung auch dann stattfindet, wenn Form und Aussehen der früher erkrankten Pflanzen durch Ausheilung normal geworden sind."

Das Verhältnis der Durchschnittsgewichte von gesunden Kontrollrüben und früher wurzelbrandig gewesenen, dann wieder ausgeheilten Rüben stellte sich im Jahre 1906 wie 100 : 57, im Jahre 1907 wie 100: 62. Die Wurzelkrankheit beeinträchtigt daher die Rentabilität des Rübenbaues in beachtenswertem Maße. Vogel (Bromberg).

v. Faber, Ueber die angebliche Bedeutung von Myxomonas betae Brzeziński für den Wurzelbrand und die Herz- und Trockenfäule der Rüben. (Arb. a. d. Kais. biol. Anstalt f. Land- und Forstwirtschaft. Bd. VI. 1908. Heft 3.)

Verf. gibt zunächst einen Ueberblick über die von Brzeziński in den Bulletins de l'académie des sciences de Cracovie, classe des sciences mathém. et natur. 1906 Mars veröffentlichten Behauptungen über die Bedeutung von Myxomonas betae für Wurzelbrand, Herz- und Trockenfäule der Rüben, Wurzelkropf, Bodenmüdigkeit der Rübenäcker, bakterielle Gummosis, wie auch über den Entwickelungsgang des Parasiten nach den diesbezüglichen Mitteilungen des polnischen Autors.

Verf. erwähnt dann weiter, daß er zwar bereits früher an wurzelbrandkranken Pflanzen nach mehrtägigem Liegen in der feuchten Kammer bisweilen Schleimpilze beobachtete, aber trotz umfangreicher Untersuchungen an gesunden, wie herz- und trockenfäule-, vor allem aber wurzelbrandkranken Rüben in keinem einzigen Falle die Myxomonas

betae in irgendeiner Entwickelungsform auffinden konnte. „Wohl aber", fährt Verf. fort, „habe ich häufig allerlei Körper anderer Art beobachtet, die an Brzezińskis Parasiten in hohem Maße erinnern, die aber, wie sich bei näherer Betrachtung und Untersuchung herausstellte, nicht zu einem Myxomyceten gehören. Das zwingt mich zu der Vermutung, daß Brzeziński, wie bei der Verwechslung von Pollenkörnern mit Zoosporangien, auch verschiedene Zellinhaltstoffe und anderes irrtümlicherweise für Entwickelungszustände seines Myxomyceten gehalten hat. Auch das Studium der Originalpräparate Brzezińskis hat mich von dieser Vermutung nicht abbringen können." Verf. geht dann im einzelnen den verschiedenen Beobachtungen von Brzeziński nach, und führt dabei aus, daß voraussichtlich Oeltröpfchen, Stärkekörner, Plasmateilchen, Leukoplasten, Bakterien, unter dem Einfluß von Brownscher Molekularbewegung u. dgl. von Brzeziński für verschiedene Zustände seines „Myxomonas betae" gehalten worden sind. Verf. sagt weiter: „Ueberhaupt ist zu bemerken, daß die von Brzeziński angewandte Methodik der Untersuchung nicht ausreicht, um über das Wesen und die Entwickelungsgeschichte eines solchen Organismus ein klares Bild erhalten zu können. Die Präparate waren nicht nur sämtlich aus der Hand geschnitten, sondern auch viel zu dick, als daß man feinere Einzelheiten daran hätte erkennen können", und gibt dann seiner Meinung Ausdruck, daß die angebliche Myxomonas aller Wahrscheinlichkeit nach überhaupt nicht existiert, und daß kein Grund vorliegt, sie bei der wissenschaftlichen Behandlung von Rübenkrankheiten weiterhin zu berücksichtigen. Ehrenberg (Breslau).

Linhart, G., Ueber Wurzelbrand der Zucker- und Futterrübe. (Monatshefte f. Landwirtsch. Jahrg. I. 1908. p. 356.)

Aus in der Literatur vorliegenden neueren Publikationen ist zu ersehen, daß Phoma betae Frank ein sehr gefährlicher Erreger des Wurzelbrandes ist, durch den Rübensamen verschleppt und durch das Schälen oder Schälen und Beizen desselben zugleich mit anderen Mikroorganismen zum großen Teil entfernt werden kann. Trotzdem sträubt man sich aber, bei der Wertbestimmung des Rübensamens seinen Gesundheitszustand in Rechnung zu ziehen und erklärt auch das Schälen und Beizen als eine zwecklose Operation. Verf. ist aber nach wie vor der Ansicht, daß bei der Wertbestimmung des Rübensamens auch dessen Gesundheitszustand in Rechnung zu ziehen sei, da ein Rübensamen, der bei der Keimprobe verhältnismäßig viel kranke Keime liefert, im allgemeinen doch weniger wert, als ein vollkommen gesunder Samen ist und leichter bei der Aussaat an Wurzelbrand erkranken kann. Auch muß bei der Keimprobe ein Unterschied nach „leicht-" oder „schwerkranken" Keimen gemacht werden, da letztere absolut wertlos sind und auch erstere in weniger guten Rübenböden, besonders unter ungünstigen Vegetationsbedingungen, in ihrer Mehrzahl zugrunde gehen können. Tatsache ist ferner, daß ein von Mikroorganismen infizierter Rübensamen, geschält bezw. geschält und gebeizt, nicht nur im Keimbett, sondern auch im Freiland angebaut, fast immer günstigere Resultate als ein kranker unbehandelter Samen liefert. Selbstverständlich ist dies nur dann der Fall, wenn das Schäl- und Beizverfahren entsprechend gut ausgeführt wird, wie dies nach dem Verfahren von Kühle wiederholt praktisch erprobt worden ist. Hiltner, Busse und Ulrich wollen bei der Wertbestimmung des Rübensamens seinen Gesundheitszustand nicht in Rechnung ziehen, weil dies nicht im

Interesse der Rübensamenproduzenten liegt, im Handel leicht zu Unannehmlichkeiten führen kann, keine genügend verläßliche Untersuchungsmethode zur Feststellung der kranken Keime und Knäuel vorliegt und auch deshalb, weil die Krankheitskeime ja auch im Boden vorkommen können. Verf. gibt dies als mehr oder weniger als richtig zu, erklärt aber, daß dies doch kein Grund dafür wäre, die Feststellung des Gesundheitszustandes bei der Wertbestimmung des Rübensamens als überflüssig zu erklären. Der Einwand, daß auch im Boden die Krankheitserreger vorhanden sein können, somit die Ausscheidung des kranken Rübensamens oder die geringere Preisbewertung desselben keinen Zweck habe, bezeichnet Verf. insofern nicht als richtig, weil man ja bei der Verwendung eines gesunden oder möglichst gesunden Rübensamens eine Quelle der Ansteckungsgefahr beseitigt oder mindestens mehr oder weniger herabsetzt, was auch für das Schälen bezw. Schälen und Beizen gilt.

Stift (Wien).

Stift, A., Ueber das Auftreten von Ramularia betae auf Samenfutterrüben. (Blätter für Zuckerrübenbau. Jahrg. XV. 1908. p. 278.)

Ueber das Auftreten dieses Pilzes auf Blättern der Zuckerrübe hat Bubák vor einigen Jahren berichtet. Auf den Blättern entstehen unregelmäßige, runde, oft ausgebauchte Flecken, die einen Durchmesser von 4—10 mm besitzen. Die Farbe der Flecken ist grau oder graubraun und dieselben besitzen keine rote, glänzende Umwallung, wodurch sie sich, abgesehen von der Größe, von jenen Flecken unterscheiden, die durch den Pilz Cercospora beticola Sacc. hervorgerufen werden. Die durch Ramularia betae hervorgerufenen Flecken besitzen vielmehr an der Peripherie einen schmäleren oder breiteren grauen, konzentrisch eingeschrumpften Streifen, welcher mitunter ziemlich breit ist und nach und nach im Gewebe verschwindet. Der durch Ramularia verursachte Schaden ist größer als der von Cercospora, weil die Flecken viel größer sind und außerdem von dem Mycel auch das außerhalb der Flecken gelagerte Gewebe angegriffen wird, so daß das Blatt früher zugrunde geht als durch Cercospora. In Böhmen hatte sich damals Ramularia von der Futterrübe auf die Zuckerrübe ausgebreitet. In vorliegendem Falle trat Ramularia auf einigen Samenfutterrüben auf, die am Rande eines Futterrübenfeldes im steierischen Ennstals (Höhe gegen 800 m ü. d. M.) standen. Das Auftreten des Pilzes wurde um den 20. Aug. herum beobachtet und äußerte sich weiter in der Weise, daß Ende August kein einziges Blatt mehr gesund war. Kleine Verfärbungen waren auch auf einigen Samenstengeln, sowie auf den Fruchthüllen der dazu gehörigen Knäuel zu beobachten. Inwieweit das Auftreten des Pilzes die weitere Entwickelung der Knäuel beeinflußt hätte, konnte leider nicht verfolgt werden, da die Samenrüben einige Tage nach der Untersuchung von böswilliger Hand ausgerissen wurden. Einige Blätter des Futterrübenfeldes zeigten Ende August die durch den Pilz Sporidesmium putrefaciens F. verursachte „Blattbräune“, und auf diesen Blättern wurde auch Ramularia vorgefunden, doch war das Auftreten dieses Pilzes nur ein ganz geringes und nur auf einige Blätter beschränkt. Es hatte demnach der Pilz auf den Blättern der Futterrüben keine Rolle gespielt. Der vorliegende Fall ist darum von Interesse, als er zeigt, daß die Samenrüben stark von dem Pilz befallen wurden, während hingegen die

danebenstehenden einjährigen Pflanzen kaum einer Invasion ausgesetzt waren. Autoreferat.

Stift, A., Zur Verschleppung der Rübennematode. (Wiener landw. Ztg. Jahrg. LVIII. 1908. p. 436.)

Rudolf Jonas hat in der Arbeit „Der Ausbau der Prophylaxis zum Schutze der landwirtschaftlichen Kulturpflanzen gegen Krankheiten" (die obige Zeitschrift. No. 34) darauf hingewiesen, daß der Saturationsschlamm oder Düngkalk gegen den Drahtwurm sich sehr gut bewährt hat, daß es aber nötig ist, ihn auf Nematoden prüfen zu lassen. Verf. weist aber nach, daß durch den Schlamm unmöglich diese Würmer verschleppt werden können, da der Aetzkalk 0,14—3,12 Proz. beträgt. Wie wird die Rübennematode nun verschleppt? Die Antwort lautet: 1) Durch anhaftende nematodenhaltige Erde an Ackergeräten, Stiefeln der Leute, Hufe der Tiere; 2) durch Einmieten verseuchter Rüben auf gesunden Feldern; 3) durch Abschipperde; 4) durch Rübenschwänze und andere Abfälle aus dem Sammel- oder Schlammteiche; 5) durch das von der Fabrik ablaufende Wasser; 6) durch den Teichschlamm; 7) durch die Verfütterung frischer Rübenköpfe. — Eine Verschleppung ist unmöglich 1) durch gut eingesäuertes Rübenmaterial; 3) durch den Rübensamen; 3) durch den Saturationsschlamm. Matouschek (Wien).

Doby, G., Die Keimlingskrankheiten der Zuckerrübe und die Oxalsäure. (Oesterreichisch-ungarische Zeitschrift für Zuckerindustrie und Landwirtschaft. Jahrg. XXXVII. 1908. p. 596.)

Hiltner und Peters haben sich vor einigen Jahren dahin ausgesprochen, daß die von Linhart als parasitisch erkannten Mikroorganismen (Phoma Betae Fr., Bacillus mycoides Flügge u.s.w.) vielleicht nur harmlose Saprophyten sind, die für die Rübenkeimlinge nur dann gefährlich werden, wenn die Wurzeln durch den Einfluß bestimmter Stoffe, namentlich von Oxalaten, in ihrer Widerstandsfähigkeit geschwächt werden. Verf. hat nun diese Voraussetzungen näher untersucht, und hierbei zuerst die Frage aufgeworfen, ob denn überhaupt Bestimmungen über den Oxalsäure- und Oxalatgehalt der Rübenknäuel vorliegen. Diesbezüglich sind in der Literatur nur zwei Angaben zu finden, die ältere von Scheibler (1880), nach welcher der Runkelrübensamen sehr erhebliche Mengen von Oxalsäure in freier und gebundener Form enthält, welche durch Wasser ausgelaugt werden können, und die jüngere Angabe von Strohmer und Fallada (1906), welche im eigentlichen Rübensamen ohne der Fruchthülle (also nicht im sogenannten Rübenknäuel) 0,14 Proz. an Alkalien und 0,21 Proz. an Kalk gebundene, jedoch keine freie Oxalsäure fanden. Angesichts dieser Resultate war der für die Untersuchung der vorliegenden Frage einzuschlagende Weg der folgende: Es ist in verschiedenen Rübensamen die Menge an freier und gebundener Oxalsäure festzustellen; ist dann ein Zusammenhang zwischen der Menge der Oxalsäure bezw. der Oxalate und dem durch Keimungsversuche ermittelten Gesundheitszustande der Rübenknäuel ersichtlich, so ist die Voraussetzung Hiltner-Peters' bestätigt und kann als erwiesen gelten. Ist jedoch ein derartiger Zusammenhang nicht nachweisbar, dann muß die Hypothese der schwächenden Wirkung des tatsächlichen Oxalatgehaltes auf den keimenden Rübensamen als unzutreffend angesehen werden. Dann würden — wie dies auch aus den Untersuchungen des Verf. hervorgeht — die Keimungs-

versuche Hiltner-Peters', in denen sie die Rübenknäuel in mit Oxalsäure und Oxalaten imprägnierten Sande keimen ließen, einfach theoretisch verwertbare Beiträge zu den toxischen Wirkungen der Oxalsäure und ihrer Salze bieten, ohne jedoch in irgend einer Hinsicht auf den Gesundheitszustand der Rübenknäuel anwendbar zu sein. Verf. hat zu seinen Untersuchungen 25 verschiedene Rübensamen genommen und in denselben den Gehalt an Oxalsäure in freiem, an Alkali und an Kalk gebundenem Zustande bestimmt. Es wurde nun in keinem der untersuchten Rübensamen auch nur eine Spur freier Oxalsäure gefunden, so daß die seinerzeitige Angabe Scheiblers auf einem Irrtum beruht. Ferner ist auch zwischen den neutralen und sauren, also den in Wasser löslichen Oxalaten und der Keimungsfähigkeit bezw. dem Gesundheitszustande der Knäuel kein Zusammenhang zu erkennen, da z. B. ein vorzüglicher Rübensamen ebensoviel Oxalsäuregehalt an Alkali gebunden aufweist, wie eine der allermindesten Proben. Schließlich wurde gefunden, daß auch der Gehalt der Knäuel an freien und in sauren Salzen gebundenen Säuren mit der Keimfähigkeit der Knäuel und dem Gesundheitszustande der Keime nichts zu tun hat. Was die Verteilung an Oxalate im Rübenknäuel anbetrifft, so ist die Menge der Oxalate am geringsten im Samen selbst, dagegen am größten in den äußersten, aus Kelchblättchen und verkorkten, löcherigen Geweben bestehenden Teilen der Fruchthülle. Es besteht jedoch ein Unterschied in der Verteilung der Alkali- und Kalkoxalate. Während nämlich das Kalkoxalat im äußersten Teile der Fruchthülle fast in derselben Menge vorhanden ist, wie in den übrigen inneren Teilen der Knäuel, kann der Gehalt an Alkalioxalat in den letzteren sogar bis auf weniger als die Hälfte des Gehaltes der äußersten Fruchthülle fallen. Auch aus diesem Befunde geht hervor, daß sich in diesem Teile der Fruchthülle oxydierende bezw. Fäulnis erregende Vorgänge abspielen, jedoch dürften nicht die durch diese Vorgänge unter anderen gebildeten Oxalaten jene Gefahr für die Keime in sich bergen, sondern höchstens darauf hinweisen, daß es sich hier um eine starke Pilz- und Bakterienflora handelt; die Oxalate könnten also höchstens eine symptomatische Bedeutung haben. Betrachtet man die Sachlage in dieser Beleuchtung, so kann es aus pflanzenpathologischen Rücksichten nur wünschenswert erscheinen, daß ein Rübensame schlechterer Qualität „geschält" werde.

Stift (Wien).

Korff, Ueber ein starkes Auftreten des Meerrettichblattkäfers. (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz und Pflanzenbau. Jahrg. VI. 1908. Heft 8.)

Verf. teilt mit, daß die Meerrettichkultur in der Umgegend von Würzburg seit einigen Jahren durch das Auftreten des Meerrettichblattkäfers, Phaedon Cochleariae, stark gefährdet sei. Die zerstörende Tätigkeit des Schädlings besteht darin, daß die Blattfläche skelettiert und vielfach nur noch das Adernetz übrig gelassen wird.

Schaffnit (Bromberg).

v. Faber, Untersuchungen über Krankheiten des Kakaos. (Arb. a. d. Kais. Biol. Anstalt f. Land- und Forstwissenschaft. Bd. VI. 1908. Heft 3. Mit 1 Taf.)

I. Ueber Hexenbesen der Kakaobäume in Kamerun. Verf. beschreibt die Morphologie des Hexenbesens, die Befunde seiner mykologischen Untersuchungen, die zu der Anschauung berechtigen, daß der Erreger des Kakaohexenbesens eine (vom Verf. „Taphrina Bussei" benannte)

Taphrina-Art ist, die Verbreitung in den Kameruner Pflanzungen und die durch Reize des Pilzes im Gewebe (Achse, Blattstiel, Blattrippen, Blätter) veranlaßten anatomischen Veränderungen.

Als direktes Bekämpfungsmittel kommt das Zurückschneiden und Verbrennen der Hexenbesen in Betracht, ferner wäre die Feststellung der bis jetzt unbekannten Fruktifikationszeit des Pilzes von Wichtigkeit.

Die schon von Rizema Bos aufgeworfene Frage, ob die „Krulloten aus Surinam" hexenbesenähnliche Bildungen sind, beantwortet Verf. dahin, daß Krulloten und Kameruner Hexenbesen als zwei wahrscheinlich analoge, jedoch nicht identische Bildungsabweichungen anzusehen sind.

II. Ueber die Krebskrankheit des Kakaos in Kamerun. Im 2. Teil der Arbeit über Krebskrankheit gibt der Autor eine Darstellung der äußeren Merkmale des Stammkrebses, der Anatomie des erkrankten Gewebes, der mykologischen Resultate, der Infektionsversuche mit Reinkulturen und beschreibt das Vorkommen von Nectria auf Früchten sowie die Verbreitung des Pilzes, für welche Wind, Insekten und Wasser eine wichtige Rolle spielen. Als Vorbeugungs- und Bekämpfungsmaßregeln werden Entfernung aller erkrankten Teile des Baumes und Vermeidung von Verwundungen genannt. Schaffnit (Bromberg).

Smith, Erwin F., Recent studies of the olive-tubercle organism. (U. S. Dept. of Agric. Bureau of Plant Industry. Bull. No. 131. Part IV. 1908.)

Die in Italien schon seit der Römerzeit bekannte „Krebsknotenkrankheit" der Olivenbäume ist in den letzten Jahren auch in Kalifornien stark aufgetreten. Verf. bespricht nun die auf diesem Gebiete veröffentlichten Arbeiten kritisch, und fügt seine eigenen Beobachtungen hinzu.

v. Faber (Berlin).

Kossowicz, Alexander, Ueber eine durch Bacterium coli commune verursachte faulige Gärung grüner Oliven und deren Behebung. (Zeitschr. f. das landwirtschaftl. Versuchswesen in Oesterreich. Jahrg. XI. 1908. p. 725.)

In in Fässern gefüllten (zur Herstellung von Mixed Pickles), im Stadium der Nachgärung befindlichen Oliven stellt sich gelegentlich eine faulige Gärung unter Entwickelung eines starken unangenehmen Geruches ein, wodurch der wertvolle Inhalt des ganzen Fasses unbrauchbar wird. Bei der vom Verf. ausgeführten mykologischen Untersuchung eingelegter Oliven aus Südfrankreich konnte neben einer weißen und orangegelben Sarcine, als Erreger der Gärung Bacterium coli commune isoliert werden. An gesunden Oliven vorgenommene Infektionsversuche mit diesem Bakterium ergaben auch tatsächlich das in Frage stehende Krankheitsbild. Die veranlassende Ursache dieser Zersetzung lag zunächst in dem verhältnismäßig geringen Salzgehalt der Salzlösung, in der sich die Oliven befanden und der unter 4 Proz. betrug. Versuche mit dem aus den gärenden Oliven isolierten Coli-Stamm zeigten, daß er sich im Salzwasser, in dem Oliven eingelegt waren, bei 6 und 8 Proz. Kochsalzgehalt ziemlich gut entwickelte; bei 10 und 12 Proz. Kochsalzgehalt war die Entwickelung eine sehr schwache, und bei einem Gehalt von 15 Proz. Kochsalz blieb sie ganz aus. Ein weiterer Grund der Gärung liegt in der nicht entsprechenden Reinigung der Fässer; es waren auch tatsächlich in der Salzlösung Schimmelpilze (Penicillium glaucum) vertreten, die jedenfalls den Säuregehalt (Milchsäure) der Salzlösung

herabsetzten, wodurch die Entwickelung von Bacterium coli eine Förderung erfuhr. Die Gärungserscheinung, insofern sie nicht zu weit fortgeschritten ist, kann dadurch behoben werden, daß man die Oliven aus der ursprünglichen Salzlösung entfernt und in eine konzentrierte warme Salzlösung von ca. 60—70° einlegt. Man läßt diese Salzlösung abkühlen und bringt dann die Oliven nach 1—2 Tagen in eine heiße Salzlösung von 10 Proz. Kochsalzgehalt, in der sie nach der Abkühlung aufbewahrt werden. Bei dieser Behandlung schwindet der unangenehme Geruch vollständig, die Oliven werden wieder genießbar, nur dunkelt die grüne Färbung ein wenig nach. Auf Grund mehrfach in der Literatur hervorgehobenen Antagonismus zwischen Coli-Bakterien und gewissen Milchsäurebakterien lag der Gedanke nahe, zu versuchen, durch Hervorrufung einer nachträglichen Milchsäuregärung die Wirkung der Coli-Bakterien zu unterdrücken. Zu diesem Zwecke wurden die übelriechenden Oliven in eine 2 Proz. Natriumchlorid enthaltende Salzlösung unter Zusatz von saurer Milch eingebracht. Nach 4—6-tägigem Verweilen kamen dann die Oliven in eine warme (60—70° C) 10-proz. Kochsalzlösung, in welcher sie nach erfolgter Abkühlung bis zu ihrer weiteren Verwendung verblieben. Nach dieser Behandlung konnte der Zersetzung vollständig Einhalt getan werden, ohne daß dabei die ursprüngliche grüne Färbung der Oliven eine Aenderung erfahren hätte. Es erscheint also dieses zweite Verfahren dem ersten überlegen. Die geheilten Oliven waren wohlschmeckend und ohne jede krankheitsverursachende Nebenwirkung, ein Umstand, der mit Rücksicht auf die Natur des Gärungserregers besonders hervorgehoben werden muß. Stift (Wien).

Grassi, G. B. e Foà, A., Inaspettata scoperta di una fillossera su le radici della quercia. (Rendiconti Accademia Lincei. [5]. Vol. XVI. 1907. II. Sem. p. 429—431.) [Mitt. d. k. Reblausstation in Colle Salvetti.]

Auf einigen Exemplaren von Quercus sessiliflora, welche auf höheren Aesten ähnliche Krankheitszeichen wie beim Reblausangriffe an Vitis vinifera zeigten, fanden Verff. eine neue, wurzelbewohnende Phylloxera, die bei herumstehenden, gesunden Eichen fehlte. Die Wurzeltuberositäten waren größer als bei der Reblaus üblich ist. Die aptere Form dieser Phylloxera hat keine konstante Farbe, meistens ist sie grünlich. Die Eichenblätter zeigten Besuchflecken der Flugform, Gallen konnten aber bisher nicht aufgefunden werden. Verff. fanden aptere Form, Eier, Neugeborene, Larven, Nymphen, Flugformen. Die Eier ähneln den Sommereiern der Reblaus, doch besteht manche Differenz zwischen beiden Arten sowie zwischen der neuen Ph. Danesii und Ph. corticalis auf Quercus cerris. E. Pantanelli (Rom).

Hariot, P., Note sur un Oidium du chêne. (Bulletin Soc. Mycol. France. T. XXIII. 1907. p. 157—159.)

Das neue Oidium, welches auf Eichenblättern und jungen Zweigen und Trieben in Frankreich recht schädigend auftritt, dürfte zu einer Microsphaera (Alni?) gehören. Matouschek (Wien).

Neger, Ueber das epidemische Auftreten eines Eichenmehltaupilzes in einem großen Teil von Europa. (Naturwissenschaftl. Zeitschr. f. Forst- und Landwirtschaft. Jahrg. VI. 1908. Heft 11.)

Da Perithecien des auf Eiche im vergangenen Sommer epidemisch aufgetretenen Mehltaupilzes noch nicht gefunden werden konnten, steht vorläufig dahin, welcher Pilz vorliegt, vermutlich gehört er zu Microsphaera. Schaffnit (Bromberg).

Lyncker, Eichenwickler und Traubeneiche. (Naturwissenschaftl. Zeitschr. f. Forst- und Landwirtschaft. 1908. Heft 8.)

Verf. berichtet über einen Fall von Fraßschädigung durch Eichenwickler, bei dem — im Gemeindemittelwald von Offenbach an der Queich — im laufenden Jahre wie auch früher die Traubeneichen verschont blieben. Eine Erklärung wird in Anbetracht der Tatsache, daß anderorts in Traubeneichengebieten diese Eichenart genau so stark befressen wird, wie hier die standortsgemäßen Stieleichen, nicht versucht. Ehrenberg (Breslau).

Evans, J. B. Pole, The South African locust fungus, Empusa Grylli Fres. (Transvaal Agric. Journal. Vol. V. 1907. p. 933—939. Mit 1 Taf.)

Es scheint wenig Aussicht zu sein, den Pilz gegen die Heuschreckenplage praktisch anzuwenden. Denn die käuflichen Tuben enthalten gar nicht den genannten Pilz, der nach Versuchen des Verf. sicher ein obligater Parasit ist. Auf lebende Heuschrecken läßt er sich leicht übertragen, auf tote aber nicht, und in Kulturen konnte er nicht zum Weiterwachsen gebracht werden. Matouschek (Wien).

Trotter, A., Un nuovo parassita ipogeo del gen. Entyloma. (Annales mycologici. Vol. VI. 1908. p. 19—22. 3 Fig.)

An den Wurzeln von Gnaphalium und Helichrysum kommen bekanntlich zwei, starke Anschwellungen hervorrufende Ustilagineen vor, die zur Gattung Entyloma gehören. Verf. entdeckte ähnliche Bildungen nun auch an den Wurzeln von Crepis bulbosa. Es handelt sich um eine neue Art, die als Entyloma crepidicola ausführlich beschrieben wird. H. Sydow (Schöneberg-Berlin).

Niessen, J., Ueber Zoocecidien und Cecidozoen des Niederrheins. (Sitzungsberichte, herausg. vom Naturhistorischen Verein der preußischen Rheinlande und Westfalens. 1907. Heft 2. p. 91—94. Bonn 1908.)

Verf. ist Mitarbeiter an dem cecidologischen Exsikkatenwerke von Grevillius. Vom Niederrhein waren keine Notizen bekannt; bisher fanden beide Forscher etwa 540 Zoocecidien und 4 Helminthocecidien. Das dankbarste Gebiet ist der „Bärendonk" mit Torfwiesen und Sümpfen. Nach Aufzählung von bisher unbekannten und unbeschriebenen Gallen beschreibt Verf. genauer folgende: 1) Biorrhiza-aptera-Galle an den Wurzeln von Quercus pedunculata, 2) Aphis-cardui-Galle auf Oenothera muricata, 3) Cryptorhynchus-lapathi-Galle auf Alnus glutinosa. Unbekannten Ursprunges sind noch die Cecidien auf Polygonum amphibium var. terrestre, Myosurus minimus und Polystichum Thelypteris. Matouschek (Wien).

Molz, E., Einige Bemerkungen über die durch Chermes piceae var. Bouvieri auf Abies nobilis hervorgerufenen

Triebspitzengallen. (Naturwissenschaftl. Zeitschr. f. Forst- und Landwirtschaft. Jahrg. VI. 1908. p. 151—154. Mit 4 Fig. im Text.)

In den Anlagen des Rheinkais in Bingen stand eine Abies nobilis. 1,50 m hoch, deren Gipfelteil von Nadeln fast völlig entblößt und abgedürrt war, während die einzelnen Zweige mit zahlreichen knolligen Anschwellungen von etwa Walnußgröße überdeckt waren. Auch an den unteren Seitenästen, die noch vegetierten, waren an den Verzweigungsstellen große Verdickungen. Alle diese Anschwellungen wurden von dem obengenannten Insekte hervorgerufen. Verf. beschreibt nun genau die Art der Gallenbildung: Die Gallenwucherung wächst gleichzeitig mit der Knospe und umschließt diese allmählich scheidenartig; es findet mitunter eine völlige Umhüllung der Knospe statt, so daß letztere erstickt. Häufiger wachsen ein oder mehrere Triebe durch die Galle durch. Die Verzweigung dieser Triebe wird unregelmäßig, ihr Längenwachstum ist wesentlich verkürzt und es wachsen in dieser Weise manche Zweige zu hexenbesenartigen Gebilden aus. Von den Knospengallen wandern die Läuse später auf den Trieb selbst über und setzen sich in dem oberen Winkel zwischen Nadeln und Achse fest. Hier erzeugen sie eine erbsengroße Rindenanschwellung. Häufen sich diese Tuberkel an einer Stelle, so entstehen größere Knollen, die bei einseitiger Ausbildung den Trieb krümmen oder eine walzenförmige Gallenbildung hervorbringen, falls die Anschwellung rings um den Trieb herum geht. Der Schaden, den die Tiere verursachen, ist ein sehr großer; die Bäume sterben ab.

Matouschek (Wien).

Hiltner, Beiträge zur Kleeseidefrage. (Prakt. Blätter f. Pflanzenbau und Pflanzenschutz. 1908. Heft 2.)

Verf. steht auf Grund seiner in Bayern ausgeführten Versuche auf dem Standpunkte, daß die Grobseidearten (Cuscuta racemosa und arvensis) auch wenn sie sich noch so üppig auf dem Klee entwickeln, diesem weit weniger Schaden zufügen, als die gewöhnliche Kleeseide (Cuscuta trifolii). Jene Unkräuter gelangen nur in Ausnahmefällen zur Samenreife, überdauern also den Winter für gewöhnlich nicht. Aber auch vereinzelte Samenkörner der gewöhnlichen Kleeseide werden einen allzugroßen Schaden nicht anrichten können. Wo erhebliche Schädigungen auf den Kleefeldern beobachtet wurden, da war auch das Saatgut in ungewöhnlichem Maße verseidet gewesen. H. hält es für übertrieben, wenn Kleesorten von den Kontrollstationen zurückgewiesen werden, weil sie ein einziges Korn Seide enthalten, während gleichzeitig zahllose Unkrautsamen anderer Art unbeachtet bleiben.

Auf Anfragen, ob ein mit Seidefrüchtchen besetzter Klee als seidefrei verkauft werden dürfe, hat H. folgende Antwort erteilt:

Ein Klee, der in 100 g auch nur ein Korn Seide oder ein Früchtchen mit reifen oder der Reife nahen Samen enthält, kann nicht als seidefrei bezeichnet werden. Ist eine Probe frei von reifen Samen bezw. der Reife nahen Früchten, bietet sie dagegen andere Merkmale dafür, daß die Saat nicht feldrein von Seide geerntet wurde, wie z. B. Stengelstückchen, vereinzelte, völlig unreife und daher unschädliche Früchtchen, so ist kein Einspruch zu erheben, wenn der Händler auf sein eigenes Risiko hin die Saat als seidefrei bezeichnet. Findet sich in einer anderen Probe eines derartigen Klees doch noch ein reifes Korn oder Früchtchen, so wird dem Einsender der betreffenden Probe davon Mitteilung gemacht mit der Bemerkung, daß das vereinzelte Vorkommen eines

Seidekornes noch keine allzugroße Gefahr in sich schließt, die Saat daher anerkannt werden kann.

Die Hauptsache wird immer bleiben, daß dort wo Klee- oder Grobseide auftreten, eine energische Bekämpfung erfolgt. Hierfür empfiehlt Verf. eine Bespritzung mit 15—18-proz. Eisenvitriollösung.

Vogel (Bromberg).

Schmitthenner, Verwachsungserscheinungen an Ampelopsis und Vitis-Veredelungen. (Intern. phytopath. Dienst. Jahrg. I. 1908. Stück 1.)

Im Kampfe gegen die Reblaus ist das biologische Verhalten des Reises und der Unterlage von besonderer Wichtigkeit. Um dieses würdigen zu können, erscheint die Kenntnis des histologischen Baues der Veredelungsstelle besonders wünschenswert. Verf. unterzog diese einer eingehenden mikroskopischen Untersuchung und gibt in seiner Arbeit eine ausführliche Darstellung derselben. Geprüft wurden Pfropfungen von Ampelopsis Veitchii auf Ampelopsis hederacea, ferner Kopulationen von Sylvana mit Riparia gloire de Montpellier.

Schaffnit (Bromberg).

Neger, Die pilzzüchtenden Bostrychiden. (Naturwissenschaftl. Zeitschr. f. Forst- und Landwirtschaft. 1908. Heft 5.)

Verf. gibt einige Literaturangaben und bespricht dann eine Arbeit Hubbards eingehender, dabei seine eigenen Untersuchungen und ihre Ergebnisse hervorhebend. Diese sind:

1) Die holzbewohnenden Bostrychiden, welche sich nur zum Teil von Holz, der Hauptmasse nach aber von dem aus dem Holz herauswuchernden Pilzbelag ihrer Gänge ernähren, züchten in ihren Gängen je nach der Käferart auch verschiedene Pilzarten, höchstens sehr nahe verwandte Arten haben ein und denselben Pilz in Kultur. Infolgedessen ist die Art des Pilzes nicht vom Nährbaum abhängig, sondern stellt ein Züchtungsprodukt des Käfers dar. Dies tritt besonders für in Nadel- wie in Laubholz lebende Käfer hervor. Diese schon von Hubbard aufgestellte Ansicht wird vom Verf. bestätigt.

2) Die den Käfern als Nahrung dienenden „Ambrosiazellen" sind nicht, wie Hubbard annimmt, Konidien, sondern vielleicht ein Züchtungsprodukt des Käfers, ähnlich den „Kohlrabihäufchen" der Ameisenpilze. Auch wenn die Ambrosia nicht abgeweidet wird, keimt sie nicht aus, sondern geht an der Luft sehr bald unter Braunfärbung zugrunde.

3) Im Gegensatz zu Hubbard stellt Verf. weiter fest, daß auch bei mangelndem Abweiden keine übermäßige Produktion von Ambrosia eintritt.

4) Die Ansicht Hubbards, daß die Pilze in den Wohnräumen der Tiere nicht zufällig wachsen, sondern durch den Mutterkäfer ausgesät werden, wird voll bestätigt. Nur nimmt Verf. dabei kein bewußtes Handeln der Tiere an, sondern erklärt die Aussaat durch die eigentümliche Bauart der Konidienträger der Pilze, dann aber durch die Lebensgewohnheiten der geschlechtsreifen Käfer.

5) Verf. sieht die biologische Bedeutung der Pilznahrung für die Käfer darin, daß diese aus dem stickstoffarmen Holze durch den Pilz sich gewissermaßen konzentrierte Stickstoffnahrung zusammentransportieren lassen.

Näheres sei im Original verglichen. Ehrenberg (Breslau.)

Fuchs, Gilbert, Ueber die Fortpflanzungsverhältnisse der rindenbrütenden Borkenkäfer, verbunden mit einer geschichtlichen und kritischen Darstellung der bisherigen Literatur. 83 pp. Mit 10 Taf. Photographieen. München (Reinhardt) 1907. 6 M.

von Oppens hat 1885 gelegentlich der Studien über Hylobius abietis nachgewiesen, daß das Lebensende der Rüssel- und Borkenkäfer (und auch der meisten anderen Insekten) für das männliche Geschlecht nach der Kopulation, für das weibliche nach der Eiablage nicht eintrete. Nüsslin wies dies für Pissodes-Arten, Knoche (1904) für Borkenkäfer nach. Alle diese Käfer sind imstande, mehrmals hintereinander nach gewissen Zeiträumen Brut zu erzeugen, ehe sie sterben. In der Zeit zwischen den einzelnen Bruten stärken sich die Käfer zur erneuten Geschlechtstätigkeit durch einen Stärkungsfraß, den man „Regenerationsfraß" nennt. Berücksichtigt man die jungen Käfer, so zeigte Nüsslin, daß die aus den Puppen hervorgegangenen Tiere nicht direkt fortpflanzungsfähig sind. Während der Reifezeit dieser Jungkäfer fressen letztere; ihr Fraß wird „Nachfraß" genannt, das ist ein Fraß, der vor der Fortpflanzungsfähigkeit der „Jungkäfer" liegt. Der Fraß kann 1) an der Geburtsstätte von der Puppenwiege aus stattfinden, wobei in labyrinthischen Gängen das ganze ursprüngliche Fraßbild zerstört werden kann (z. B. Tomicus typographus) Bleibt es erhalten, so besteht es aus Muttergang, Larvenfraß mit Puppenwiegen und Jungkäfernachfraß; 2) außerhalb der Geburtsstätte stattfinden, sei es unter der Rinde frischen Materials (Herbstfraß bei Hylastes glabratus Zett., Hylesinus fraxini Panzer), sei es im Marke frischer Triebe (Myelophilus piniperda L.). Die Intensität des Nachfraßes ist eine verschiedene. Der Witterung kommt ein Einfluß auf Schwärmzeit und Beendigung des Nachfraßes zu. Niedrige Temperatur und Infektionen mit Gregarinen und Nematoden verlängern die Nachfraßperiode.

Regenerationsfraß und mehrmalige (meist zweimalige) Brut konnte Autor für eine größere Zahl von Borkenkäfern nachweisen (Polygraphus, Typographus, Hylesinus fraxini etc.). Man kann da drei Gruppen von Borkenkäfern unterscheiden:

1) Wärmebedürftige Tiere, denen doppelte Generation besser zuzusagen scheint als einfache. Vertreter sind viele Eccoptogaster (= Scolytus)-Arten.

2) Tiere, die doppelte Generationen erzeugen, unter nicht zusagenden Verhältnissen aber nur eine einfache- z. B. alle Tomicini exklusive der Holzbrüter, Polygraphus, Hylastes glabratus Zett., Crypturgus und Pteleobius).

3) Tiere, die nie doppelte Generationen erzeugen (Dendroctonus micans Kny, Hylesinus fraxini etc.).

Das Werk ist für jeden, der sich mit der Biologie der Borkenkäfer beschäftigt, von großer Bedeutung.

Die nach Photographieen des Verf. reproduzierten schönen und instruktiven Fraßbilder lassen den Preis des Werkes nicht zu hoch erscheinen. Matouschek (Wien).

Knoche, E., Ueber Borkenkäferbiologie und Borkenkäfervertilgung. (Forstwissenschaftliches Centralblatt. Jahrg. XXX. 1908. Heft 3. p. 141—153; Heft 4. p. 200—209; Heft 5. p. 245—254.)

Die Arbeit zerfällt in folgende Abschnitte: Generationsfrage, Verhalten von Alt- und Jungkäfern, die wirtschaftliche Bedeutung der Altkäfer, Abwehrmaßregeln.

Verf. verteidigt in vielen Fragen den Begründer der deutschen Forstentomologie Ratzeburg gegen Angriffe von Nüsslin, G. Fuchs, Eichhoff, hebt die Forschungsresultate dieser Männer hervor und vergleicht sie miteinander, mit denen Ratzeburgs und mit seinen eigenen. Er gelangt da zu Ergebnissen, die Gilbert Fuchs in der Arbeit: Ueber die Fortpflanzungsverhältnisse der rindenbrütenden Borkenkäfer etc. 1907 aufgestellt hat. Bezüglich der Abwehrmaßregeln zeigt er, daß Ratzeburgs Methode die einzig richtige ist. Der moderne Standpunkt zur Bekämpfung der Borkenkäfer ist folgender: Den Käfern ist, solange sie noch in so geringer Zahl vorhanden sind, daß sie gesunden Stämmen keinen wesentlichen Schaden zuzufügen vermögen, jede Brutgelegenheit und damit die Möglichkeit, sich bedrohlich zu vermehren, abzuschneiden, oder Hauptflüge durch den als Fangmaterial benutzten Einschlag anzulocken und ihre Brut unschädlich zu machen. Ist eine Kalamität einmal eingetreten, so müssen die Käfer durch Massenvertilgung der Brut ohne Rücksicht auf den Bestand möglichst dezimiert und durch Werfen von zahlreichen, überall verstreuten Fangbäumen oder anderem geeigneten Fangmateriale, so gut das geht, vom stehenden guten Holze abgelenkt werden. Das Fangmaterial muß gelegt werden, solange noch bemerkenswerter Anflug stattfindet. Matouschek (Wien).

Hennings, C., Experimentell-biologische Studien an Borkenkäfern. IV. (Naturw. Zeitschr. für Land- und Forstwirtsch. 1908. p. 469.)

I. Die Generationsverhältnisse. Bei den Borkenkäfern finden sich Arten, die nur eine Generation erzeugen und solche, die eine oder mehrere Generationen erzeugen können. Verf. trennt sie in zwei biologische Gruppen, die der Nicht-Beeinflußbaren und die der Beeinflußbaren. Erstere sind von äußeren Verhältnissen mehr oder weniger unabhängig und beschränken sich auf eine Generation, zu ihr gehören Dendroctonus micans und Eccoptogaster ratzeburgi. Bei der zweiten Gruppe wirken äußere Umstände bestimmend ein auf die Dauer der Eiablage, auf die Zeit, welche die einzelnen Entwickelungsstadien beanspruchen, auf das Verhalten der Jungkäfer, so daß je nachdem eine oder mehrere Generationen erzeugt werden. Hierher gehören die Eccoptogasterinen (mit Ausnahme von E. ratzeburgi), Hylesinus, Ptelobius u. a.

II. Der Ernährungsfraß. Neben dem „Brutfraß" der Mutterkäfer, der besonders der Eiablage dient, gibt es auch einen Ernährungsfraß, der steril ist und nur zur Befriedigung des Ernährungsbedürfnisses dient. Dabei müssen unterschieden werden: 1) Der Jungkäfernachfraß. Während manche Borkenkäfer sofort nach dem Ausbohren aus der Puppenwiege sich an anderer Stelle einbohren und sofort zur Eiablage bereit sind, brauchen die Jungkäfer mancher Arten einen mehr oder minder langandauernden „Nachfraß", um ihre Organe, speziell die Genitalorgane auszureifen. Dieser Nachfraß variiert sehr nach Ort, Form und Ausdehnung. Verf. gelang es experimentell nachzuweisen, daß manche Arten unter günstigen Umständen auf ihn fast ganz verzichten, daß andere wiederum, die im Freien in der Regel wenig Nachfraß halten, unter ungünstigen Verhältnissen einen ziemlich langandauernden zu halten ver-

mögen. 2) Der „Altkäferregenerationsfraß". Diejenigen Käfer, die nach der ersten Generation noch eine zweite Eiablage zu bewerkstelligen in der Lage sind, füllen die mehr oder minder lange Pause durch den Regenerationsfraß aus, der ihrer weiteren Ernährung und insbesondere der Regeneration der Genitalorgane dienen soll. Jedoch führt ein Regenerationsfraß nicht immer unbedingt zur zweiten Eiablage, namentlich spielen auch hier äußere Umstände eine große Rolle. 3) Der Witwenfraß. Damit bezeichnet man den Fraß, der von einem monogamischen Weibchen oder Familie ausgeführt wird, er gleicht nicht selten vollkommen dem einer digamen Familie oder unterscheidet sich in Größe und Form.

Zu erwähnen sind die vorzüglichen Photographieen der verschiedenen Fraßgänge. A. Eichinger (Halle a. S.).

Bálint, S., A Bostrichus (Apate) capucinus a szölöben. [Ueber das Auftreten des Bostrichus capucinus im Weingarten.] (A m. kir szölészeti kisérleti állomás és ampelologiai intézet evkönyve. I. évf. 1906 [1907]. p. 32.)

Die Larven dieser Borkenkäferart wurden in vertrocknenden Weinstöcken gefunden, außerdem kommen sie auch in oberirdischen Teilen der Pfähle vor. Pósch (Grinád, Ungarn).

Sedlaczek, Der blaue Erlenblattkäfer (Agelastica alni L.) im Jahre 1906. (Centralbl. f. das gesamte Forstw. Jahrg. XXXIV. Wien 1908. Heft. 6. p. 244—246.)

Darlegung der Biologie des Käfers. Größere Boden- und Luftfeuchtigkeit wirken bezüglich der Verbreitung und des Massenauftrittes fördernd. Namentlich in Pflanzenschulen wird der Käfer recht schädlich. Mittel zur Vernichtung der Käfer und seiner Entwickelungsstadien.

Matouschek (Wien).

Reh, Ungewöhnlicher Massenfraß von Gespinstmotten. (Zeitschr. für wissensch. Insektenbiol. Bd. IV. 1908. Heft 7.)

Verf. berichtet über das massenhafte Auftreten von Gespinstmotten im Sommer 1908, namentlich in der Gegend von Echem, die Erlenbrüche, Prunus-Sträucher und den darunter befindlichen Boden mit Kräutern und Gräsern vollständig weiß übersponnen hatten. Raupenfraß wurde nur an Prunus-Büschen konstatiert. Diese waren vollständig kahl gefressen und selbst junge Triebspitzen und Rindenteile waren angenagt.

Als raupenfeindliche Parasiten züchtete Verf. Angita armilata Grav. Schaffnit (Bromberg).

Kleine, R., Myelophilus piniperda L. und sein Parasit Plectiscus spilotus Förster. (Berliner entomologische Zeitschr. Bd. II. 1907. Ser. IV. Heft 3. p. 150—156. Berlin 1908.)

Es werden besprochen: Erscheinungszeit und Generationsfrage von Myelophilus und das Verhältnis des Parasiten zu seinem Wirte. Es ergeben sich Resultate, die eine wertvolle Ergänzung der Ratzeburgschen Bemühungen sind. Man sieht, daß es eine dankbare Aufgabe ist, sich auch der Ichneumonen der Forstinsekten wieder anzunehmen, um dieselben in ihrer Biologie näher kennen zu lernen.

Matouschek (Wien).

Fuchs, Schmarotzer aus Forleule. (Naturwiss. Zeitschr. für Forst- und Landwirtschaft. 1908. Heft 5.)

Puppen von Forleule aus einem Fraßgebiet im Reichswalde lieferten folgende Schmarotzer:

an Tachinen: Panzeria rudis Fll.

an Ichneumoniden: Ichneumon nigritarius Gr. Plectocryptus arrogans Gr.

Ichneumon pachymerus Rtz. Microcryptus abdominator Gr.

Ichneumon bilunulatus Gr. Cryptus dianae Gr. var. gracilicornis Gr.

Aphanistes armatus Wesm.

Von den Ichneumoniden war pachymerus mit über 50 Proz. am stärksten vertreten. Verf. hält aber die Tätigkeit der Tachinen für weitaus wichtiger, als die der Ichneumoniden, was er durch die größere Individuenzahl der ersteren, wie auch durch ihre durchschnittlich bedeutendere Größe erklärt. Ehrenberg (Breslau).

Loos, Curt, Spinne und Nonne. (Centralblatt für das gesamte Forstwesen. XXXIII. Jahrg. Wien 1907. Heft 3 p. 109—113.)

Es scheint sicher zu sein, daß weder Spinnen noch Käferlarven Nonneneier auffressen. Werden sie, wie es so oft geschieht, in kleine Höhlungen der Kiefernborke abgelegt, so werden, da letztere auch den Spinnen zur Ueberwinterung dienen, die Ausgänge der Höhlen mit Gespinst verschlossen und die jungen Nonnenraupen können nicht heraus. Matouschek (Wien).

Schimitschek, Ed., Ueber die Nützlichkeit der Stare (Sturnus vulgaris L.). Zur Nonnengefahr. (Oesterreichische Forst- und Jagdzeitung. Jahrg. XXV. Wien 1907. No. 29. p. 236.)

Verf. beobachtete, daß Stare viele Raupen der Nonne vertilgen und zitiert aus der Literatur ähnliche Beobachtungen. Stare lesen aber auch die großen Raupen des Kiefernspinners und die von Curculio pini und ata auf und erweisen sich in dieser Beziehung als Waldhüter ersten Ranges; man soll eben nur Gelegenheit zum Nisten in Holzschlägen und an Waldesrändern geben. Matouschek (Wien).

Werner, Franz, Ueber Rauchschäden. (Oesterreichische Vierteljahrsschrift für Forstwesen. Bd. XXVI. Jahrg. 1908. Heft 2. p. 107—121.)

Fünf Fragen werden erläutert:

1) Von wo rühren die Säureschäden her?

2) An was für Erscheinungen werden sie vom Forstmanne erkannt?

3) Auf welche Art können wir das Leben der Bäume und Bestände verlängern, damit sich nicht binnen wenigen Jahren zusammenhängende übergroße Schlagflächen mit ihren Nachteilen in wirtschaftlicher Beziehung anhäufen?

4) Welche Holzarten leiden mehr, welche weniger unter der Einwirkung der schwefeligen Säure?

5) Was müssen wir tun, um rauchgeschädigte, eingehende Nadelholzbestände auf großen Flächen noch in ertragsfähige Laubholzbestände umzuwandeln?

Uns interessieren hier einige Resultate: Eine allgemeingültige Regel über den Schädigungsgrad läßt sich im Gegensatze zu vielen Autoren nicht aufstellen; es hängt immer vom Boden ab, welche Holzarten mehr, welche weniger geschädigt werden. Z. B. der Ahorn gilt als sehr empfindlich, aber er leidet auf einem ihm zusagenden frischen Boden ebensowenig wie die Eiche, welche als am unempfindlichsten gilt, weil sie auch noch an einem schlechten Standorte gedeiht. Es empfiehlt sich, in größeren Waldkomplexen, die vom Rauche geschädigt sind, immer einen den Rauchquellen zunächst liegenden Waldteil mit Laubholz zu bebauen, damit die entfernter liegenden Waldteile von den schädlichen Insekten mehr verschont bleiben. Matouschek (Wien).

Wislicenus, H., Ueber die Grundlagen technischer und gesetzlicher Maßnahmen gegen Rauchschäden. (Heft 1 der Sammlung von Abhandlungen über Abgase und Rauchschäden, unter Mitwirkung von Fachleuten, herausg. von H. Wislicenus.) Gr. 8°. 80 pp. Berlin (P. Parey) 1908. 1,20 M.

Die Abwasserfrage und die Rußfrage sind im letzten Jahrzehnt dem erstrebenswerten Ziele weit näher gerückt als die Frage der Abgase und Rauchschäden, d. h. der Beschädigungen der Nutzpflanzen und anderer Wertobjekte durch schädliche Bestandteile der Abgase mit Einschluß der Flugasche. Der Herausgeber und Verleger wollen mit einer in freier Folge erscheinenden Sammlung von Abhandlungeu über das Thema Arbeiten von Fachleuten über die Grundlagen zur Klärung der verwickelten Frage gleichzeitig allen beteiligten Kreisen in einfachster Form zugänglich machen und zu Bänden sammeln. Bisher erschienen 2 Hefte, das obengenannte und „die Rauchquellen im Königreiche Sachsen und ihr Einfluß auf die Forstwirtschaft". Jedes Heft ist einzeln käuflich; doch nimmt jede Buchhandlung Subskriptionen auf die ganze Sammlung entgegen.

Die obige Abhandlung enthält so viele interessante neue Gesichtspunkte, daß es sich lohnt, auf diese näher einzugehen. Im 1. Abschnitte werden die grundlegenden Tatsachen behandelt. Es ist nicht wahr, daß die allgemeine Schwängerung der Atmosphäre mit schwefeliger Säure durch die Verwendung der Steinkohlen in Hauswesen und Industrie in absehbarer Zeit überall die Vegetation der Kulturländer schädigen muß. Beweis hierfür ist die Rechnung und der Umstand, daß bei der Verbrennung der Kohlen 200mal mehr CO_2 als schwefelige Säure entsteht, ohne daß der normale CO_2-Gehalt der Luft bisher eine meßbare Steigerung erfahren hat. Der Verf. weist auf die außerordentliche Schädlichkeit der gasförmigen Fluorverbindungen (Fluorwasserstoff, Kieselfluorid, Kieselfluorwasserstoffsäure) hin, welche bei der Fabrikation von Superphosphat aus Mineralphosphaten (z. B. französisches Kreidephosphat, Floridaphosphat, russischer Phosphorit) entstehen. Ihre Schädlichkeit übertrifft weit die der anderen Säuren. Doch richten all die Säuren (Fluorverbindungen, Salz-, Schwefel- und Salpetersäure) mehr lokale, akute Vegetationsschäden an, während die schwefelige Säure infolge ihrer Hydrophilie die räumlich ausgedehntesten chronischen Schäden an der Vegetation hervorbringt. — Der 2. Abschnitt befaßt sich mit der Frage: Welche besonderen Umstände verursachen und fördern das Umsichgreifen von Rauchschäden, und welche hemmen die ungünstige Wirkung? Im allgemeinen sind die Laubhölzer widerstandsfähiger als die Koniferen. Da in Mitteleuropa in

ebenen Gegenden die westlichen Luftströmungen überwiegen, so müssen die Rauchschäden östlich von der Rauchquelle ohne Ausnahme überwiegen. In Tälern befindliche Rauchquellen sind für den Wald schädlicher als solche in der Ebene, weil auf einem geneigten Terrain ein größerer Teil eines jeden Baumes dem direkten Rauchstrahle ausgesetzt ist. Verf. verwirft den Satz der Gutachtenpraxis, daß die Konzentration der Abgase mit dem Quadrate ihrer Entfernung von der Rauchquelle abnehme; es herrscht höchstens nach dem Verf. ein lineares umgekehrtes Verhältnis vor. Hat man es mit gleichmäßig horizontalen Winden (ohne Wirbelbewegung) zu tun, so werden die Abgase auf große Entfernungen befördert, ohne daß deren Konzentration der obigen Annahme entsprechend abnimmt. Versuche des Verf. ergaben auch folgende Resultate: Der Schwefelgehalt der Steinkohlen beträgt im Mittel etwa 1 Proz., die Verbrennungsgase der Steinkohlen enthalten rund 0,05 Volumprozente schwefelige Säure. Also kommt auf 2000 Raumteile der Verbrennungsgase 1 Raumteil schwefelige Säure; die anderen Bestandteile dieser sind N, CO_2, Kohlenoxyd, wenig O, Ruß. In dieser eben genannten Konzentration sind die Verbrennungsgase für jeden Organismus unbedingt tödlich. Eine mehr als 100-fache Verdünnung der Abgase mit atmosphärischer Luft ist nötig, um sie für natürliche Pflanzenbestände unschädlich zu machen. Werden in industriellen Unternehmungen Schwefel, ferner Rohprodukte, die Schwefel oder Schwefelsäure enthalten, verarbeitet (z. B. bei der Darstellung von Schwefelsäure, Sulfitcellulose, Sulfatgas, Ultramarin) oder werden, wie in Hüttenwerken, Kiese, Glanze oder Blenden verarbeitet, so wird stets viel mehr schwefelige Säure entwickelt, bei den Hüttenwerken auch die ebenso schädliche arsenige Säure (man denke an die Nickelerze, Fahlerz). In diesen beiden Fällen müssen die Abgase mit einem vieltausendfachen Volumen der gewöhnlichen Luft verdünnt sein, damit sie unschädlich werden. — Bezüglich der Fichten konnte Verf. die schon von Schröder und Hartig festgestellte Annahme bestätigen, daß nämlich junge Bäume im Sonnen- oder diffusen Lichte bereits bei einem so geringen Gehalte der Luft an schwefeliger Säure zugrunde gehen, bei dem solche Bäume im Winter oder im Dunkeln (also wenn die Assimilation ruht) gut gedeihen. Diese Erscheinung deckt sich mit der bekannten Tatsache, daß die Bäume zur Zeit ihres Assimilationsmaximums, also im zeitlichen Sommer, gegen die Gase am meisten empfindlich sind. — Der 3. Abschnitt behandelt die Frage: Welche Schutzmittel (natürliche und technische) wurden bisher benützt und welche sind überhaupt oder als neu zu empfehlen? Die Entsäuerungsmethoden eignen sich gegen die schwefelige Säure nur dann, wenn sie in recht großer Menge erzeugt wird, was aber recht selten der Fall ist. Diese Methoden kommen auch zu teuer. An dem Beispiele der 144 m hohen Halsbrücker Zentralesse (bei Freiberg i. S.) wird gezeigt, daß sehr hohe Schornsteine nur den Platz unter seiner Mündung schützen, nicht aber die Umgebung. Leider läßt sich die so empfindliche Fichte auch nicht überall durch die Weißföhre oder durch Laubbäume ersetzen. Dies ist nur dann möglich, wenn ein Fichtenwald nicht aus finanziellwirtschaftlichen sondern aus sanitären Gründen dasteht. Es wird im letzteren Falle stets die Anlage eines etwa 50 m breiten Streifens von Birke oder Weißerle dennoch empfohlen. Bedenkt man, daß die genannte Esse 13mal weniger schwefelige Säure produziert als alle Feuerungen der Stadt Dresden, so gelangt man unwillkürlich zu der Annahme, daß das beste Schutzmittel in der Dezentralisation

der Rauchherde besteht. Die Technik muß aber auch an einem anderen Probleme arbeiten: sie muß billige Exhaustoren, Gaswaschkammern, Wasserzerstäubungskammern, Ventilatoren, Absorptionsräume etc. konstruieren, damit die Gase schnell entgiftet werden. Solche Vorrichtungen stehen vielfach mit bestem Erfolge im Betriebe. Von diesen beiden Maßregeln ist der größte Erfolg zu erhoffen. — Die zwei letzten Abschnitte beschäftigen sich mit den gesetzlichen Grundlagen bezüglich der Verhütung von Rauchschäden, also mit den Grundzügen einer „Luftgesetzgebung" und eines „Luftrechtes". Da hat die Technik viel zu arbeiten; der Hygieniker und Forstmann wird mit den Resultaten dann völlig zufrieden sein können.

Wir sehen, daß die Arbeit auch für den Pflanzenpathologen recht wichtig ist, da wir es mit einem grundlegenden Werke zu tun haben.

Matouschek (Wien).

Uzel, H., Mitteilung über Schädiger und Krankheiten der im Jahre 1906 in Böhmen mit der Zuckerrübe abwechselnd kultivierten Pflanzen. (Zeitschr. für Zuckerindustrie in Böhmen. Jahrg. XXXII. 1908. p. 622.)

Weizen wurde in starkem Maße durch den Steinbrand und die Getreideblattlaus beschädigt und im Spätherbst wurde junger Weizen von den Larven der Markusfliege (Bibio Marci) befallen, deren Bekämpfung eine sehr schwierige ist. Empfehlenswert ist vielleicht ein Vermengen des Samens mit pulverisiertem Naphtalin, das dem Keimling nichts schadet und allen Insekten widerlich ist. Roggen wurde im Spätherbst durch die Larven der Gartenhaarmücke (Bibio hortulans) beschädigt und die Gerste wurde in Mittelböhmen von den Pilzen Helminthosporium gramineum und H. teres befallen. Ersterer Pilz verursacht die sogenannte Streifenkrankheit, die, da sie nicht durch Sporen von Blatt zu Blatt verbreitet wird, nicht ansteckend ist. Die Krankheit erscheint auf dem Blatt erst dann, wenn das Mycel des Pilzes, welches aus dem keimenden Korn emporwächst, das betreffende Blatt erreicht. Auf der Oberfläche der Streifen wachsen aus dem Mycel Sporenträger mit 1—5 Querwänden entweder einzeln oder in Bündeln. Auf den Sporenträgern werden Sporen gebildet und nur jene Sporen vermehren den Pilz, welche auf die reifenden Körner der umstehenden gesunden Pflanzen gelangen; sie überwintern an den Hüllen der Körner, indem sie entweder nicht keimen oder ein kleines Mycel bilden. Beim Aussäen des Kornes wächst das Mycel in dasselbe hinein und gelangt mit der keimenden Pflanze in alle ihre Teile. Zur Bekämpfung der Krankheit empfiehlt sich ein Beizen des Saatgutes in 52—54$^{1}/_{2}$ ° C warmem Wasser während 5 Minuten oder mit Kupfervitriol, von welchem man auf 100 kg Saatgut 500 g (in Wasser gelöst) verwendet; hierbei ist so viel Wasser anzuwenden, daß es 8—10 cm über dem Saatgut steht. Nach 12 Stunden entfernt man die Kupferlösung und gießt Kalkmilch auf das Saatgut und zwar für 100 kg desselben 6 kg frisch gebrannten Kalk in 110 l Wasser. Nach 5 Minuten wird die Kalkmilch abgegossen, das Saatgut ausgebreitet und getrocknet. Ferner ist zu empfehlen, im Frühjahr möglichst spät zu säen und gegen die Krankheit widerstandsfähige Sorten zu wählen. Von der Krankheit befallene Felder sind vorteilhaft einige Jahre nicht mit Gerste zu bebauen. Die durch den Pilz Helminthosporium teres hervorgerufene sogenannte Helmintho-

sporiosis tritt in Gestalt von kleinen, dunklen, breit gelb umsäumten Flecken oder Streifen auf den Blättern auf, die aber nie zerfallen. Die Blattscheiden pflegen fast vollkommen verschont zu bleiben. Diese Krankheit ist bei weitem nicht so schädlich wie die vorher erwähnte, ist aber im Gegensatz zu dieser ansteckend, da die Sporen, welche auf Gerstenblätter gelangen, keimen und zur Entstehung neuer Flecken Veranlassung geben, auf denen wieder Sporen entstehen. Zur Bekämpfung erscheint ein Beizen, wie früher hervorgehoben, empfehlenswert. Stickstoffhaltige Düngungsmittel scheinen die Entwickelung der Krankheit sehr zu begünstigen. Weiter wurde die Gerste von Drahtwürmern, Thysanopteren, der Getreideblattlaus, dem Brandpilz Ustilago Jensenii und dem Rostpilz Puccinia simplex befallen. Hafer litt, wie alle Jahre, durch Heterodera Schachtii und den Brandpilz Ustilago Avenae. Getreide überhaupt wurde durch Feldmäuse und durch die Larven des Getreidelaufkäfers (Zabrus tenebrioides = gibbus) geschädigt. Diese Larven verwüsten das junge Getreide im Herbst und im Frühjahr und die Käfer fressen die reifenden Körner in den Aehren aus. Diese Schädlinge werden am besten durch tiefes Umpflügen des befallenen jungen Getreides und durch Anbauen einer anderen Feldfrucht bekämpft. Ferner empfiehlt es sich, um die befallenen Stellen seichte Gräben zu führen und in deren Sohle Blumentöpfe bis zu ihrem Rand zu vergraben, in welche die Larven fallen. In Speichern befindlichem Getreide schadete bedeutend der Kornkäfer (Calandra granaria s. Sitophilus granarius) und die Kornmotte (Tinea granella), auf Kartoffeln verursachte der Pilz Phytophthora infestans die Krautfäule. Dieser Pilz wird durch Besprengen des Krautes im Juni, Juli und August mit einer Lösung von 1 kg Kupfervitriol und 1 kg frisch gebranntem Kalk in 100 l Wasser bekämpft. Faule Kartoffeln sind bei der Ernte zu entfernen, ferner sollen nur ganz gesunde, an einem trockenen und kühlen Orte aufbewahrte Kartoffeln gelegt und nur widerstandsfähige Sorten angebaut werden. Die zum Legen bestimmten Kartoffeln soll man 4 Stunden lang in einer Temperatur von 40° C liegen lassen. Früh reifende Sorten, weiße Sorten und seit längerer Zeit eingeführte Sorten widerstehen der Krankheit weniger als spät reifende Sorten, solche mit einer festen, roten Schale und jüngst eingeführte Sorten. Ferner wurden die Kartoffeln noch durch Schorf, Bakterienfäule, Rhizoctonia violacea und Fusarium befallen. Dem Klee schadete bedeutend der Samenstecher Apion apricans, dessen Larven in den Blütenständen leben und den Samen ausfressen. Kopfkohl litt durch Erdflöhe, Raupen des großen Kohlweißlings und durch Blattläuse. Kohlrabi wurde von dem Pilz Plasmodiophora brassicae befallen und Meerrettich von den Blattflöhen Phyllotreta atra, Ph. armoraciae, Ph. vittula und Ph. nigripes. Junge Erbsen wurden durch den Käfer Sitona lineata durch Anfressen der Blätter beschädigt. Auf Mohn trat der Käfer Ceutorhynchus macula alba auf, der merkwürdigerweise für die Fauna Böhmens neu ist; ferner zeigte sich der Käfer Mylabris atomaria. Hanf litt durch die Angriffe überaus zahlreicher Kleinzirpen, welche durch ihr Saugen eine helle Sprenkelung der Blätter verursachten. Stift (Wien).

Krieg, A., Beiträge zur Kenntnis der Kallus- und Wundholzbildung geringelter Zweige und deren histologi-

schen Veränderungen gr. 8°. 68 pp. mit 25 Taf. [Inaugural-Dissertation.] Würzburg (A. Stuber) 1908. M. 12.—.

Es wurden dikotyle Pflanzen studiert, die Ringelungen bis auf das Holz vorgenommen und dann die Anatomie des Vernarbungsgewebes, auch die der Blätter untersucht. Die Entwickelung des oberen Wulstes war immer stärker als die des unteren. Im Schatten entwickeln geringelte Zweige bedeutend stärkere Wülste als an der Sonne. Auch die jüngsten Dauergewebezellen der Rinde werden zu höherer Tätigkeit angespornt. Pflanzen mit vielen Gefäßen entwickelten solche auch im Wundholz (Vitis, Syringa, Aesculus). Wundholzbildung erfolgte an geringelten Zweigen von Vitis auch im Marke; die Ursache liegt in den Zersetzungsprodukten des an der Ringelstelle abgestorbenen Holzes. Bei dieser Pflanze wurden auch mehrzellige Thyllen an der Ringelstelle gesehen. Namentlich oberhalb dieser Stelle zeigten geringelte Zweige viel mehr Stärke und Gerbstoff; die Stoffe treten überhaupt in solchen Zweigen stärker auf als an den ungeringelten. — Die Photographieen sind sehr instruktiv. Matouschek (Wien).

Hollrung, Untersuchungen über die Ursache der im staatlichen Versuchsweinberg Zscheiplitz auftretenden Chlorose. (Landwirtschaftliche Jahrbücher. Bd. XXXVII. 1908. p. 497.)

Verf. fand die Ursache zu seinen Untersuchungen in dem Umstand, daß die im sogenannten Rekonstitutionsverfahren (Anbau von Veredelungen der amerikanischen, reblauswiderstandsfähigen Reben) angepflanzten Reben, zumal auf kalkhaltigen Böden, häufig von der Chlorose befallen werden.

Nach Mitteilung einiger Untersuchungszahlen des in Betracht kommenden Weinbergsbodens, sowie von Messungen normaler und chlorotischer Triebe werden die anatomischen und chemischen Verhältnisse der chlorotischen Reben besprochen. Von letzteren sei erwähnt, daß der Wasser- und Stickstoffgehalt in chlorotischen Blättern ausnahmslos höher ist als in grünen Laubsprossen, während mit einer einzigen Ausnahme die grünen Blätter mehr Kalk enthalten. Es folgen dann Feststellungen über das physiologische Verhalten chlorotischer Reben, wovon hervorgehoben sei, daß in der Bodenkrume, nicht, wie die Mutterpflanze, im Untergrund wurzelnde Absenker chlorotischer Pflanzen die Erscheinungen der Krankheit vermissen lassen. Außerdem sind Veredelungen der Chlorose weit stärker unterworfen als die unveredelten Vitis-vinifera- und Amerikaner-Rebsorten. Auch andere Beobachtungen, darunter der Fall, daß eine Veredelung sich nahezu 10 Jahre inmitten einer Umgebung von mehr oder weniger gelbsüchtigen Reben absolut chlorosefrei gehalten hat, lassen den Schluß zu, daß unter sonst gleichen Verhältnissen gewisse Rebenvarietäten der Chlorose verfallen, andere dagegen nicht. Uebrigens ist nicht nur die Varietät, sondern auch der Standort von Einfluß. Bezüglich der Ursachen der Chlorose im hier behandelten Fall gibt Verf. zunächst eine Zusammenstellung der Literatur, und kommt dann auf Grund seiner Versuche zu der Ueberzeugung, daß in Zscheiplitz mit Hilfe der Kontagientheorie eine Erklärung der Schädigung nicht durchführbar erscheint. Um die Ansicht von einer anderweitigen Verursachung zu begründen, gibt Verf. dann eine Reihe von Untersuchungsdaten, aus denen u. a. hervorgeht, daß es nicht gelingt, im vor-

liegenden Falle durch Zuführung von Eisenvitriol durchschlagende Erfolge zu erzielen. Es folgen dann Versuche über die Bedeutung von Kalk und von Magnesia, sowie von Kali, aus denen hervorzugehen scheint, daß der Kalk eine Rolle bei der Entstehung der Chlorose der Rebstöcke spielt. Die Diskussion der physikalischen Faktoren, die sich nun anschließt, bietet von Bemerkenswertem hier nur die Ansicht des Verf., daß trotz teilweise gegenteiligen Erfolges der Versuche doch Luftmangel unter den Erregern der Chlorose in erster Reihe stehen soll. (Bezüglich der hier sich anschließenden Versuche über die verstopfende Wirkung feinster Calciumcarbonat- und Calciumsilikatteilchen auf die Bodenporen sei darauf hingewiesen, daß bei Verwendung größerer Mengen von Calciumsilikat auch die durch hydrolytische Spaltung usw. des Silikats eintretende basische Reaktion einen schädigenden Einfluß des Silikats erklären könnte.)

Nachdem noch Bodenwärme, Luftwärme, Licht und der Schnitt in den Rahmen der Betrachtung gezogen sind, stellt Verf. noch einmal seine Ansichten über die Ursache der fraglichen Erkrankung zusammen, und teilt dann seine Meinung über Mittel zur Behebung der Chlorose in Zscheiplitz mit. Ehrenberg (Breslau).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Foà, Carlo, Eine Methode graphischer Registrierung einiger Gärungsvorgänge. (Biochem. Zeitschr. 1908. 1. Juli.)

Gewöhnlich werden Geschwindigkeit und Verlauf der katalytischen Reaktionen untersucht, indem man von Zeit zu Zeit Proben entnimmt und diese analysiert. Es gibt aber katalytische oder Gärungsvorgänge, bei denen die analytischen Proben versagen oder die Probeentnahme nicht gelingt, ohne den Verlauf der Reaktion zu ändern. So ist es z. B. sehr schwer, die Wirkung der Oxydase auf das Hydrochinon oder auf das Tyrosin zu verfolgen, weil weder diese Körper noch die durch ihre Oxydation entstehenden quantitativ genau bestimmt werden können.

Graphische Methoden wurden bis jetzt bei solchen Gärungen versucht, bei denen die Entwickelung eines Gases stattfindet, das einen bestimmten Druck erzeugen und registrierende Apparate in Bewegung setzen kann (z. B. H. Schulz, ein Apparat zur graphischen Darstellung von Gärvorgängen).

Die von dem Verf. beschriebene Methode eignet sich ebenfalls für das Studium solcher Reaktionen, außerdem aber für die Untersuchung der Einwirkung der Oxydasen, wo statt Gasentwickelung Absorption von Gas und mithin Abnahme des Druckes in dem geschlossenen Gefäß erfolgt, in welchem die Oxydation stattfindet. Mittels eines Ostwaldschen Wärmeregulators wurde die Temperatur des Bades mit den Versuchsgefäßen konstant erhalten, so daß höchstens Schwankungen um 0,02 bis 0,03 ° binnen 24 Stunden eintraten, und das auf mehrere Wochen hinaus. Ferner wurde durch einen Mossoschen Plethysmographen die Konstanterhaltung des Druckes im Innern des Apparates bewirkt. Auf diese Weise konnte die Volumverminderung, welche bei Absorption des durchgeleiteten Sauerstoffes in der mit oxydationsfähiger Flüssigkeit und der

Oxydase versehenen Flasche stattfand, zuverlässig verzeichnet werden mit Hilfe eines Registrierapparates.

Durch Laccase werden Guajakol, ferner Paraphenylendiamin, dann Hydrochinon und Guajakharz ohne Kohlensäure oder Kohlenoxydentwickelung oxydiert, ebenso Tyrosin mittels Tyrosinase (Glyzerinextrakt von Russula delica). Nur Pyrogallol und Salicylaldehyd liefern mit Laccase Kohlensäure.

Verf. wendete nun die von ihm erfundene Methode zum Studium der Laccasewirkung auf Hydrochinon, Paraphenylendiamin, Guajakharz und Guajakol und der Tyrosinasewirkung auf Tyrosin an. Einstweilen wurden nur die erhaltenen Kurven publiziert. Es geht daraus hervor, daß während eines ersten Zeitabschnittes die Reaktion langsam eintritt, während eines weiteren ergiebiger fortschreitet, um von neuem gegen Ende der Reaktion selbst langsamer zu werden, da sich die Kurve alsdann der Horizontalen nähert. Th. Bokorny (München).

Laubert, R., Ein empfehlenswerter Pflanzenernährungsversuch für den botanischen Unterricht. (Monatshefte f. d. naturwissensch. Unterr. aller Schulgattungen. Bd. I. 1908. p. 241—245. Mit 2 Abb.)

Als Versuchspflanze ist Tradescantia viridis gewählt, die speziell für Wasserkulturen gegenüber anderen Versuchspflanzen mancherlei Vorzüge besitzt. Betreffs der Versuchsanstellung sei auf die Arbeit selbst verwiesen. An dieser Stelle sollen nur die wichtigsten der in einer Tabelle zusammengestellten Ergebnisse angeführt werden.

Mit vollständiger Nährlösung ernährt: Normal und kräftig entwickelt, Stengel niederliegend, gekniet, stark verzweigt, Blätter groß, eben, dunkelgrün, Wurzeln normal.

Mit Fe-freier Nährlösung ernährt: Blätter gelb, braunfleckig werdend, nur die ältesten grün bezw. gelb mit grünen Rippen.

Mit N-freier Nährlösung ernährt: Stengel steif aufrecht, mastig, unverzweigt, Blätter löffelförmig, wellig, gelblich-grün, Wurzeln etwas dürftig.

Mit K-freier Nährlösung ernährt: Stengel sehr langgliedrig, mit sehr kräftiger Seitenzweigentwickelung, Blätter etwas schmal, gelblich mit grünen Rippen, braunfleckig werdend, Wurzelhaare sehr lang und dichtstehend.

Mit Ca-freier Nährlösung ernährt: Stengel niederhängend, Seitenzweige ganz kurz, Sproßspitzen abgestorben, Blätter nach der Stengelspitze hin größer werdend, rückwärts gerichtet, halbdurchscheinend, mit großen schwarzbraunen Flecken, Wurzeln kümmerlich, sparrig, Wurzelhaare fehlend.

Mit P-freier Nährlösung ernährt: Stengel aufstrebend, unverzweigt, Blätter klein, dunkelgrün, unterseits stark purpurviolett, Wurzeln rötlich, Wurzelhaare fehlend.

Mit Leitungswasser ernährt: Stengel kurz, sehr kurzgliedrig, unverzweigt, Blätter nach der Stengelspitze hin kleiner werdend, gelblichgrün, unterseits rötlich-violett, Wurzeln etwas dürftig, Wurzelhaare fast fehlend.

Mit destilliertem Wasser ernährt: Stengel sehr kurz, sehr kurzgliedrig, unverzweigt, Blätter klein, Wurzeln unentwickelt oder ganz rudimentär. Autoreferat.

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Eijkman, C., Die Ueberlebungskurve bei Abtötung von Bakterien durch Hitze. (Biochem. Zeitschr. 1908 Juli.)

Die Bakterien, sogar die ein und denselben Reinkultur, zeigen große individuelle Unterschiede mit Bezug auf Lebensfrische und Vermehrungs- sowie auch Widerstandsfähigkeit gegen schädliche Einflüsse. Dadurch sind bei Desinfektionsversuchen schon oft Täuschungen vorgekommen, insbesondere bei Verwendung zu kleiner Proben. Darum scheint es von theoretischem und praktischem Interesse zu sein, die „Absterbeordnung" der Bakterien bei künstlicher Abtötung numerisch und zeitlich zu verfolgen.

Alle Versuche sind mit einem nicht sporenbildenden Mikroorganismus, dem Bac. coli communis, angestellt worden. Eine 24-stündige, bei 37° bebrütete Agarkultur wurde in einer relativ kleinen Menge einer sterilisierten Kochsalzlösung von 0,5 Proz. suspendiert und durch Papier filtriert, um wenigstens gröbere Klümpchen zu entfernen. Von der milchweißen Suspension wurden ungefähr 0,1—0,2 ccm in eine Flasche mit 50 ccm einer auf die gewünschte Temperatur vorgewärmten 0,5-proz. Kochsalzlösung eingetragen und mittels ebenso vorgewärmten Rührens schnell mit dieser vermischt. Die mit Glasstöpsel verschlossene Flasche von 100 ccm Inhalt war bis nahe an die Mündung eingetaucht in einem Ostwaldschen Wasserbad mit Toluolregulator und automatischem Rührer. In bestimmten Zeitinvallen wurden mittels steriler Pipetten abgemessene Proben aus der Flasche entnommen und Gelatineplatten davon angelegt, die im Brutofen bei 25° gestellt wurden. Die ersten noch keimreichen Proben wurden, um eine zu dichte Besäung der Platte zu vermeiden, entsprechend verdünnt; im weiteren Verlaufe kamen steigende Mengen (1—5 ccm) unverdünnt zur Anwendung. Während die lebensfrischen Coli-Bakterien nach 2—3-tägiger Bebrütung bei 25° ausnahmslos zu gut sichtbaren Kolonieen auswuchsen, äußerte sich die Schädigung durch Hitze zunächst in einer um ein bis mehrere Tage verspäteten Entwickelung. Daher geschah die definitive Feststellung der Kolonieenzahl erst, als keine Zunahme derselben mehr zu konstatieren war, d. h. nach 8 bis 16 Tagen. Als Abtötungstemperatur wurde 47—52,2° C angewendet. Die erhaltenen Resultate wurden vom Verf. graphisch durch Kurven ausgedrückt; die Ueberlebungskurve gestaltete sich im allgemeinen nach dem Typus einer ∿-Figur, wie vom Verf. von vornherein angenommen wurde. Dabei sind auf der senkrechten Ordinate die Keimzahlen, auf der wagrechten die Zeiten in Minuten aufgetragen.

Alle Frequenzkurven der Sterbefälle sind schiefe Kurven, mit der Spitze nach links, d. h. nach der Nullseite hingerückt. Die erste Hälfte der Keime ist dabei immer abgestorben, in viel weniger als der Hälfte der Zeit, die für die Abtötung aller Keime erforderlich ist.

Einige „Nachzügler" entwickeln sich übrigens, nach erfolgter schädlicher Einwirkung der Hitze, erst nach sehr langer Zeit noch, was nicht bloß die Kurve beeinflußt, sondern auch praktisch von der größten Bedeutung ist; man ersieht daraus, wie schwer eine völlige Desinfektion zu erreichen ist und wie man sich täuschen kann. Bei einem Versuch (Vers. 2) war nach 0 Minuten langer Einwirkung der 52° heißen Kochsalzlösung das Resultat der Plattenkultur:

binnen	3 Tagen	336 000 000	Keime,	binnen	15	Tagen	336 000 000	Keime
nach	1/2 Min.	144 000 000	„	„	15	„	144 000 000	„
„	1 „	115 200 000	„	„	15	„	128 000 000	„
„	2 „	51 200 000	„	„	15	„	65 600 000	„
„	3 „	4 000 000	„	„	15	„	33 600 000	„
„	5 „	800 000	„	„	15	„	2 720 000	„
„	6 „	0	„	„	15	„	640 000	„
„	10 „	0	„	„	15	„	3 750	„
„	15 „	0	„	„	15	„	1 000	„
„	35 „	0	„	„	15	„	1	Keim

Als Kolonieen auf der Gelatineplatte kamen also sogar bei 35 Min. langer Einwirkung der heißen Kochsalzlösung nach 15 Tage langem Warten noch einzelne Keime zur Entwickelung, während die Untersuchung nach 3 Tagen schon bei 5 Min. langer Einwirkung keine lebenden Keime mehr erkennen ließ. Die „Abtötungsdauer" wird also durch Vernachlässigung der „Nachzügler" von 35 Min. auf 5 Min. erniedrigt.

Th. Bokorny (München).

Kruszewski, J., Ueber Chlorierung, Bromierung und Buddisation des Trinkwassers. (Przegląd lek. 1908. No. 34, 35.)

Von den im Titel erwähnten Desinfektionsmethoden für Trinkwasser fand K. nur in der letztgenannten eine zuverlässige, gesundheitsunschädliche, ökonomisch zulässige Methode. Ein sicherer Sterilisationseffekt wird auch bei verunreinigtem Wasser bei einem Gehalt von 0,04 Proz. H_2O_2 im zu reinigenden Wasser erreicht. Gleichzeitig wird der Gehalt an organischen Beimengungen herabgesetzt und selbst verunreinigtes Wasser genügend geklärt. Der Genuß des mit H_2O_2 gereinigten Wassers ist hygienisch anstandslos, sein Geschmack kaum merkbar fade. Bei Chlorierung sowie Bromierung des Wassers wird Sterilisation erst bei relativ hohen Zusätzen der betreffenden Mittel (0,2 Cl für 1 l Wasser — 6 kg der Schumburgschen Mischung für 16000 l) erreicht, wodurch das Wasser ungenießbar wird.

Eisenberg (Krakau).

Reichel, Heinrich, Die Trinkwasserdesinfektion durch Wasserstoffsuperoxyd. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. LXI. 1908. p. 49.)

Nach einer Uebersicht über die in neuerer Zeit als wirksam empfohlenen Methoden der Trinkwasserdesinfektion erklärt es Reichel für auffällig, daß diese Verfahren, insbesondere die der Wasserstoffsuperoxyddesinfektion, noch von keiner Seite einwandfrei nach dem Prinzip von Schüder, die gesamte zum Versuch verwendete Wassermasse auch der Untersuchung auf die eingesäten Keime zuzuführen, geprüft worden seien. Verf. hat diese Lücke ausgefüllt und sich zur Desinfektion anfangs des 3-proz. Pharmakopoepräparates und dann einer H_2O_2-Lösung bedient, deren Gehalt von 7,9 Proz. durch mehrere Monate konstant befunden wurde (Quelle: Oesterr. chem. Werke, A.-G. Wien IV. Technikerstr. 5). Sie enthielt 0,065 Aequivalent Säure im Liter, welche Menge die natürliche alkalische Reaktion des Wassers nie zum Verschwinden brachte. Zu späteren Versuchen mit höheren Konzentrationen diente Perhydrol Merck. Der H_2O_2-Gehalt aller verwendeten Lösungen wurde für jede Versuchsreihe jodometrisch festgestellt. Als Prüfungsobjekt dienten dem Wasser beigemengte Typhus- und Coli-Bacillen. Nach den Keimen wurden die entsprechenden Mengen der H_2O_2-Lösungen zugefügt und nach Ablauf der gewählten Einwirkungszeit durch äquivalente Mengen

einer frisch hergestellten, gekochten und jodometrisch abgemessenen, etwa 50-proz. Na_2SO_3-Lösung zerstört, wobei geringe Ueberschüsse letzterer zur Anwendung kamen. Die glatte Umsetzung von H_2O und Na_2SO_4 war durch Vorversuche festgestellt worden.

Die Untersuchungen ergaben: Zur wirksamen Trinkwasserdesinfektion in kurzen Zeiten sind sehr große Dosen H_2O_2 erforderlich; bei längerer Einwirkung genügen sehr geringe. Für 24 Stunden können 0,5 Promille H_2O_2 verwendet werden, deren Entfernung nicht dringend geboten erscheint; als kürzeste rationelle Desinfektion können 6 Stunden mit 1,5 Promille H_2O_2 gelten, als kürzeste praktisch mögliche: 3—4 Stunden mit 5 Promille H_2O_2. Die beiden letzteren Verfahren erfordern eine Zerlegung des restlichen Superoxyds mittels eines steril zu behandelnden Katalasepräparates, des „Hepin“. Schill (Dresden).

Lemcke, A., Mitteilungen der Pflanzenschutzstelle der Landwirtschaftskammer für die Provinz Ostpreußen. (Arb. der Landwirtschaftskammer f. d. Prov. Ostpreußen. Königsberg 1908. No. 20.)

1901 wurde in Ostpreußen zuerst — vereinzelt — der Stachelbeermehltau (Sphaerotheca mors uvae) bemerkt. Leider hat die Krankheit seither stark zugenommen und ist auch auf Ribes rubrum übergegangen. Die prophylaktischen Maßregeln werden angeführt. — Da Frost mit Tauwetter 1906/07 fortwährend wechselte, mußte das Auswintern in dem Gebiete in großem Maßstabe erfolgen. In fast 50 Proz. wurde Schneeschimmel beobachtet, so daß dieser Schädling als die Ursache des Absterbens der Getreidepflanzen zu betrachten ist.

Matouschek (Wien).

Gáspár, J., Védekező anyagok vegyi vizsgálata. [Chemische Untersuchung von Bekämpfungsmitteln.] (A m. kir. szőlészeti kisérleti állomás és ampelologiai intézet évkönyve. I. évf. 1906 [1907]. p. 97—108.)

Es wurden mehrere Bekämpfungsmittel bezüglich ihrer chemischen Beschaffenheit und Brauchbarkeit geprüft und ergaben sich hier folgende Resultate:

1) Das M. Luxsche Mittel gegen Phylloxera fördert als kalihaltiger Ammoniumdünger die Lebenstätigkeit des Weinstockes, jedoch übt dasselbe auf die Phylloxera keine tötende Wirkung aus. 2) Das Aschenbrandtsche Spritzpulver enthält Calcium, Kupfer, Schwefelsäure, Kohlensäure, chemisch gebundenes Wasser und Zucker und steht bei 1-proz. Lösung einer $^1/_2$-proz. Bordelaiser Brühe gleich. 3) Das Peronospora-Bekämpfungsmittel „Villám“ kommt der Wirkung nach der Burgunder Brühe gleichzustehen und sind auch dessen Hauptbestandteile Kupfer und Soda. 4) „Kecskeméti por“ (Kecskemeter Bestäubungspulver) besteht aus Cuprammoniumsulfat und entspricht die 1-proz. Lösung einer $^1/_2$-proz. Kupfervitriollösung. Da durch die Anwendung des Mittels bei trockener Witterung eine Beschädigung der Blätter zu befürchten ist, wird eine Zugabe von Kalk vorgeschlagen. 5) „Kecskeméti gyantalisztes por“ (Kecskemeter kolophoniummehliges Pulver), ebenfalls ein Peronospora-Bekämpfungsmittel, enthält Kupfer, Schwefelsäure, Ammoniak, Eisen, Colophonium und Wasser. Colophonium wird bei kalter Vermischung mit Kalk schwer emulsiert, weshalb dieselbe in warmem Zustande erfolgen muß. Ohne Beimengung des letzteren

kann das Pulver nicht ausgespritzt werden und würde dasselbe auch die Blätter beschädigen. 5) „Unikum" enthält Kupfer, Schwefelsäure Ammoniak, Sand und Eisen. Mit Kalkmilch vermischt kommt dasselbe gegen Pilzparasiten in Anwendung. 6) „Antiperonospora" enthält freien Schwefel, Eisen- und Kupfersulfat und Borax. Der Kupfergehalt beträgt per 1 hl Flüssigkeit nur 0,2 Proz. Ohne Beimengung von Kalkmilch oder Soda ist die Beschädigung der Blätter voraussichtlich, während im entgegengesetzten Falle das minimale Quantum Kupfervitriol die erwartete Wirkung gegen die Peronospora kaum ausüben wird. 7) Das Aschenbrandtsche Bestäubungspulver gegen Mehltau enthält Kalk, Kupfer, Schwefelsäure, Schwefel und etwas Kohlensäure. Der Zusatz von Kupfer soll die dritte Bespritzung gegen Peronospora ersetzen. 8) Die Mayerfische Schwefelleber enthält Natrium, Kalium, Calcium, H_2S, Thiosulfat und Sulfite. In trockener Zeit kann die Anwendung des Mittels gegen Mehltau die Beschädigung der Blätter und jungen Triebe zur Folge haben. 8) „Mohrs Sulphurin" enthält Polysulfide des Kaliums, Natriums und Calciums, außerdem dithion- und schwefeligsäurige, als auch organische Schwefelverbindungen. Letztere verursachen einen unangenehmen Geruch, daher die Anwendung derselben, besonders zur Zeit der Herbstbekämpfungsarbeiten, nicht empfohlen wird.

Pósch (Grinád, Ungarn).

Störmer, K., Neuere Erfahrungen in der Bekämpfung von Pflanzenkrankheiten, insbesondere des Getreidebrandes. (Arb. d. Landwirtschaftskammer f. d. Prov. Sachsen. 1908. Heft 13. p. 27.)

Der gelegentlich eines Vortragskurses der Landwirtschaftskammer für die Provinz Sachsen gehaltene Vortrag beschäftigt sich besonders mit den Brandarten des Getreides und gibt ein klares Bild über den derzeitigen Stand unserer Kenntnisse darüber, vor allem über ihre Bekämpfung.

A. Eichinger (Halle a. S.).

Köck, G., Einiges über Baumschwämme und ihre Bekämpfung. (Wiener landwirtschaftl. Ztg. Jahrg. LVIII. 1908. p. 562—563.)

Zuerst wird die Kieferntramete besprochen. Die Bekämpfung muß, da beim Erscheinen des Fruchtträgers der Stamm innen schon ganz vom Mycelium des Parasiten durchzogen ist, sich daher einzig und allein auf prophylaktische Maßregeln stützen. Solche sind: Einmischen von Laubhölzern in die Nadelholzbestände entweder gleich bei der Bestandesbegründung oder durch späteren Unterbau, Vermeidung von Grünästungen bei älteren Bäumen, deren Aeste schon Kernholz haben. Die Astwunden müssen überhaupt stets geteert werden. Schwammbäume müssen bei Durchforstungen gleich entfernt und vernichtet werden. Beim Fällen solcher Bäume dürfen die Aeste nicht abbrechen. Beim Aushiebe von Bäumen dürfen andere Bäume, die stehen bleiben, nicht verletzt werden. Schäl- oder Nagewunden muß man hintanhalten. Dann wird die Rot- und Weißfäule, hervorgerufen durch Polyporus-Arten, besprochen.

Matouschek (Wien).

v. Kirchner, O., Die Rebenfeinde, ihre Erkennung und Bekämpfung. 8⁰. 41 p. Mit 2 Taf. und 22 Textfig. Stuttgart (E. Ulmer) 1908. 2 M.

Die Schrift ist dem Weingärtner gewidmet, den es mit dem Wesen und den Ursachen der Erkrankungen und Beschädigungen des Weinstockes vertraut macht. Die Mehrzahl der Abbildungen ist aus dem im gleichen Verlage erschienenen „Atlas der Krankheiten und Beschädigungen unserer landwirtschaftlichen Kulturpflanzen“ entnommen. Eine Anzahl von Figuren sind teils nach anderen guten Abbildungen, teils nach der Natur neu angefertigt. Matouschek (Wien).

Bernátsky, J., A szölö klorozisára és gyógyitására vonatkozó kisérletek. [Versuche bezüglich der Heilung der Rebenchlorose.] (A m. kir. központi szölészeti kisérleti állomás és ampelologiai intézet évkönyve. I. évfolyam 1906 [1907]. p. 14—17.)

Da bewährte amerikanische Unterlagen, hauptsächlich aber die Veredelungen auf Riparia portalis bei einem größeren Kalkgehalte des Bodens sehr häufig an Chlorose leiden, wurden behufs Bekämpfung dieser allgemein verbreiteten Krankheit wissenschaftliche Versuche ausgeführt, die folgende beachtenswerte Resultate lieferten:

I. Weder Nitrogon- noch Phosphor- oder Kalimangel verursachte an Reben in Nährlösungen Chlorose, und war in diesen Fällen auch keine charakteristische Wirkung an den Wurzeln erkennbar.

II. a) Bei einer Vermengung der Nährlösung mit 8—12 g Kalkstaub per Liter zeigen sich alsbald die Spuren der Krankheit, die rasch zunimmt, bis sich nach wenigen Wochen auf den jüngsten Blättern braune Punkte und Flecken zeigen, welcher Zustand als höchster Grad der Erkrankung angesehen werden kann. Ein kleineres Quantum von Kalkstaub (0,1—0,3 Proz.) übte eine günstigere Wirkung auf das Wachstum der Pflanzen aus. In ersterem Falle blieben auch die Wurzelhaare im Wachstum zurück und gingen nebst den Epidermiszellen bald zu Grunde. b) Bezüglich der schädlichen Wirkung führte die Anwendung von Calcium- und Magnesiumkarbonat, Kalk, Dolomit und weißem Marmor, als auch einer Vermischung der beiden ersten zu gleichen Resultaten. c) Von Calcium- und Magnesiumoxyd oder deren Mischung genügte selbst eine sehr kleine Menge zur Hervorrufung der Krankheit. Gleiches wurde auch durch Anwendung von Natriumkarbonat, Trinatrium- und Trikaliumphosphat erzielt, während Natrium- oder Kaliumdihydrophosphat eine entgegengesetzte Wirkung ausübte.

III. a) In den angegebenen Fällen konnte die Krankheit durch Beimengung von Säuren, als Ferrichlorid, Ferrosulfat oder selbst reiner Säuren, wie Salz-, Schwefel-, Salpeter-, Phosphorsäure usw. zur Nährlösung, geheilt werden. Wird hierdurch etwa eine zu starke Säuerung der Flüssigkeit vorgenommen, zeigt sich eine andere Krankheitserscheinung, die sich in der Vertrocknung und dem Abfallen der ältesten Grundblätter äußert. b) Eisenmangel verursacht bekanntlich Chlorose. Es wird jedoch bemerkt, daß bei der Vermengung einer alkalischen Nährlösung mit einem selbst größeren Quantum Eisen die Pflanze doch an Chlorose erkrankt, falls nicht eine Neutralisierung der Flüssigkeit erfolgt. Bei der Vermengung leistet Eisenoxyd gute Dienste. c) Bei einer längeren Züchtung chlorotischer Pflanzen in Glasgefäßen und Beigabe von Kalk verschwindet die Krankheit von selbst, in welchem Falle wahrscheinlich die Nährlösung durch die ausgeschiedenen Säuren der Wurzeln neutralisiert wird. d) Der Erfolg der Bekämpfung hängt auch von der Dichtig-

keit der Nährlösung ab und kann selbst bei einer Neutralisierung derselben die Heilung schädlich beeinflußt werden, sobald die aufgelösten Säuren 0,5 Proz. übersteigen.

Die weitere praktische Verwertung dieser Versuchsresultate gründet sich auch auf bisherige diesbezügliche Erfahrungen, laut welchen die Anwendung von Lösungen, die nebst Eisenvitriol Schwefelsäure enthalten, ferner die Nutzlosigkeit der Anwendung von rohen Eisen- oder einer mittels gelöschtem Kalk neutralisierten Ferrichloridlösung in kalkhaltigen Böden, die nicht immer gleiche Wirkung des Eisenvitriols, jedoch eine ausgesprochenere des reinen Ferrichlorids und schließlich die Tatsache, daß kalkhaltige Böden mehr Eisen enthalten, als die Pflanze zu ihrer gesunden Entwickelung braucht, auch begründet wird.

Pósch (Grinád, Ungarn).

Szigethi, Gy. A. und **Dupuis, L.**, Peronospóra elleni védekezési kisérletek. [Bekämpfungsversuche der Peronospora des Weinstockes.] (A m. k. szölészeti kisérleti állomás és ampelologiai intézet évkönyve. I. évf. 1906 [1907]. p. 32—41.)

Aus den Versuchsresultaten mögen nur folgende wichtigere Daten entnommen werden: Die Haftbarkeit des Aschenbrandtschen Spritzpulvers war eine geringere als die der gewöhnlichen Bordelaiser Brühe, welcher Umstand eine mehrfache Wiederholung des Verfahrens erforderte, wodurch dasselbe bedeutend verteuert wurde. Mit der Bestäubung der Trauben bei Anwendung des Aschenbrandtschen Spritzpulvers wurden bessere Erfolge als bei Verwendung des Bestäubungspulvers erzielt. Die Bespritzung mit 1-proz. Lösungen essigsauren Kupfers (Verdet neutre) hatte eine längere Vegetationsdauer der Blätter, die beständig grün blieben, zur Folge. Antispora und Result kam ohne Wirkung zur Anwendung.

Pósch (Grinád, Ungarn).

Szigethi, Gy. A., Gyökérpenész (Dematophora) ellen való védekezési kisérletek. [Bekämpfungsversuche des Wurzelschimmels des Weinstockes.] A m. kir. szölészeti kisérleti állomás és ampologiai intézet évkönyve. I. évf. 1906 [1907]. p. 48—49.)

Die Aufdeckung der Wurzel und Bestreuung derselben mit Kalkstaub oder Bestreichung resp. Bespritzung mit Kalkmilch lieferte sehr günstige Resultate, welcher Umstand nebst Vernichtung des Pilzes auch auf die Neutralisierung des Grundwassers zurückzuführen ist.

Pósch (Grinád, Ungarn).

Szigethi, Gy. és **Dupuis, L.**, Üvegházi kisérletek lisztharmat ellen. [Gewächshausversuche gegen den Rebenmehltau.] (A m. kir. szölészeti kisérleti állomás és ampelologiai intézet évkönyve. I. évf. 1906 [1907]. p. 41—44.)

Die Anwendung einer frischen Mischung von Natriumbisulfit und Schwefelstaub lieferte die günstigsten Resultate, da letzterer Bestandteil durch seine pilztötende Wirkung besonders bei niederen Temperaturgraden zur Geltung kommt, welcher Umstand zur Zeit der primären Infektion und häufigeren Temperaturschwankungen im Sommer Berücksichtigung verdient. Eine Mischung von Natriumbisulfit, Kupfervitriol und Schwefelstaub lieferte gleichgute Resultate

und wurde in diesem Falle die gleichzeitige Bekämpfung auch anderer Krankheiten erzielt. Die Mischung von Natriumbisulfit und Lehmstaub kam besonders bei der Frühjahrsbehandlung und in kälteren Gegenden erfolgreich zur Verwendung. Eine $^1/_2$-proz. wässerige Lösung des Eisenchlorids vernichtet den Mehltau, jedoch schützt diese Behandlung den Weinstock von einer weiteren Infektion nicht. Eine heilende Wirkung wurde auch durch Anwendung einer 1-proz. Lösung von Antispora erzielt. Die $^3/_{10}$-proz. Lösung von Calciumbisulfit wirkte auf Mehltau vernichtend, während eine $^1/_{10}$-proz. Pikrinsäurelösung erfolglos angewendet wurde, ja sogar bei größerer Dosierung eine schädliche Wirkung ausübte. Pósch (Grinád, Ungarn).

Wahl, Bruno und **Philp, Karl**, Anleitung zur Bekämpfung der Rübenrüsselkäfer. (Wiener landwirtschaftl. Zeitung. Jahrg. LVIII. 1908. p. 760—761.)

Rezepte für Arsengemische, mit denen man erfolgreich die Käfer Cleonus punctiventris Germ. und Cl. piger Scop. bekämpfen kann. Matouschek (Wien).

Mayr, Die Bekämpfung schädlicher Insekten mit heißem Wasser. (Deutsche landw. Presse. Jg. XXXV. 1908. No. 35.)

Die tödliche Temperatur für den Protoplasmakörper der Pflanzen liegt bei 54°. Behandelt man von tierischen Parasiten befallene Pflanzen mit heißem Wasser von 50—53°, so werden die Schädlinge getötet, während die Pflanzen selbst vorübergehend welk, aber nicht dauernd geschädigt werden, auch wenn die Einwirkung einige Minuten dauert.

Die Anwendung von heißem Wasser zur Bekämpfung von schädlichen Insekten ist übrigens keineswegs neu, wie Verf. annimmt, sondern ist in der Literatur wiederholt besprochen (Hollrung, chemische Mittel gegen Pflanzenkrankheiten u. a.). Schaffnit (Bromberg).

Lüstner, G., Ueber die diesjährigen Erfahrungen bei der Heu- und Sauerwurmbekämpfung. (Mitt. über Weinbau u. Kellerwirtsch. 1908. No. 9 u. 10. p. 131 ff.)

Sehr gut bewährte sich gegen den Heuwurm Schweinfurter Grün, das in einer Menge von 150 g auf 100 l 1-proz. Bordelaiser Brühe verspritzt wurde. Durch die Bordelaiser Brühe wird gleichzeitig auch gegen Peronospora vorgegangen. Rund wurden $^4/_5$ der vorhandenen Raupen abgetötet. Um das schwer benetzbare Schweinfurter Grün gleichmäßig zu verteilen, empfiehlt es sich, dasselbe zuerst mit Glycerin zu einem Brei anzurühren und dann der Brühe zuzusetzen. Auch Bestreuen mit Arsenpulvern ergibt gute Resultate, jedoch zeigen sich starke Verbrennungen an den Reben, die aber vermieden werden können, wenn man auf flüssigem Wege ein Arsenkalkpulver herstellt. Durch 1,3-proz. Tabakextrakt wurden ungefähr die Hälfte der Raupen vernichtet, recht gut wirkte auch Nikotinpulver, das mittels Schwefelzerstäuber in die Weinstöcke geblasen wird. 2—3-proz. Chlorbaryumlösungen ergeben ähnliche günstige Resultate, rufen aber zum Teil erhebliche Beschädigungen an den grünen Teilen der Rebe hervor. Karbolineumemulsionen erwiesen sich selbst in $^1/_2$-proz. Lösung als für die Reben gefährlich. Interessanterweise wirkte eine 3-proz. reine Schmierseifenlösung, unter kräftigem

Druck in die Gescheine gespritzt, ganz überraschend gut. Etwa $^3/_4$ der Raupen ging zu Grunde. A. Eichinger (Halle a. S.).

Dewitz, J., Bekämpfungsarbeiten gegen den Heu- und den Sauerwurm im Sommer 1907. (Bericht der Kgl. Lehranstalt f. Wein-, Obst- und Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. für das Jahr 1907 [1908] p. 356—372.) Auch veröffentlicht in „Progrès agricole et viticole“. Montpellier 1908.

An Stelle der zur Bekämpfung der beiden Traubenwickler bisher meist geübten Vernichtung der Winterpuppen versucht man neuerdings Methoden, die den Wurm selbst an seiner Fraßstelle abtöten sollen. Bei diesen Sommerverfahren geht man von der Verwendung von Kontaktflüssigkeiten auf diejenige von Giften über. Diese brauchen nicht den einzelnen Wurm zu treffen, es genügt, daß ihm die Nahrung vergiftet wird. Die Schwierigkeit des Verfahrens liegt in dem Umstand, daß die Gescheine unter dem Laub oft schwer zu erreichen sind.

a) Bekämpfung des Heuwurms durch arsenhaltige Flüssigkeiten.

Verwendet wurden in 2-proz. Kupferkalkbrühe Schweinfurter Grün, käufliches Kupferarsenit und Bleiarseniat, von den ersteren 150 g und von letzterem 400 g auf 100 l Brühe. Die an der Mosel ausgeführten Versuche litten unter ungünstiger Witterung, auch wurde die Feststellung ihrer Wirkung auf die Reben durch die im Versuchsfeld auftretenden Rauchschäden benachteiligt. Das Bleiarseniat wirkte schwächer als die beiden anderen Verbindungen. Ueberhaupt ist die Einwirkung der Brühen auf den Wurm eine langsame; nur die bekreuzte Art und junge Würmer werden schneller getötet. „Nach 16 bis 20 Tagen waren die Blüten und Trauben sauber. Daß sämtliche Würmer ausgerottet waren, läßt sich nicht annehmen. Dazu war es auch bereits zu spät im Jahre.“ Die besten Erfolge verspricht eine frühzeitige Behandlung der Gescheine.

Gleichzeitig gegen den Springwurm ausgeführte Versuche waren ohne Wirkung auf diesen, ergaben jedoch, daß auch stärkere Brühen den Reben und Trauben keinen Schaden bringen.

Versuche mit Aluminiumarseniat, welches den Vorzug besitzt, in der Brühe suspendiert zu bleiben, zeigten, daß auch bei $^1/_2$-proz. Anwendung keine Schäden auftreten. Ueber seine Wirksamkeit liegen noch keine genügenden Erfahrungen vor.

b) Bekämpfung des Heu- und Sauerwurms durch Verstäuben von Pulvern.

Das Verstäubungsverfahren bietet den Vorteil, daß die Wolken der insektiziden Pulver mit Leichtigkeit zwischen Zweige und Blätter eindringen und zu den Gescheinen gelangen.

1) Bekämpfung des Heuwurms durch Arsenpulver.

Zur Anwendung kamen Gemenge von 1 Vol. Schweinfurter Grün mit je 5, 6, oder 11 Vol. gebranntem Marmor. Der Erfolg mit diesen Mischungen war ein vollständiger gegen die jungen und alten Würmer beider Arten. Die Wirkung einiger anderer, ebenfalls verwendeter Gemische, welche Kupferarsenit enthielten, schien durch die wenig feine Beschaffenheit der Arsenverbindung beeinträchtigt zu sein.

2) Bekämpfung des Sauerwurms durch Arsenpulver.

Da der Sauerwurm, besonders des Nachts, die Beere verläßt, hat

auch die Bekämpfung der zweiten Generation mit Giften Aussicht auf Erfolg. Die Bestäubung wurde in der Mehrzahl der Versuche an abgeschnittenen Trauben vorgenommen und zwar mit Pulvern, die erst mit Wasser gekocht, heiß filtriert und dann getrocknet und zerrieben worden waren. Die ursprüngliche Mischung bestand aus Schweinfurter Grün, arsensaurem Kalk oder arsensaurem Aluminium und gebranntem Marmor, wobei die Menge der Arsenverbindung teils 33 Proz., teils nur 4 Proz. der Mischung betrug. Besonders bei den Schweinfurter Grün enthaltenden Gemengen war die insektizide Wirkung recht günstig. Entscheidend für die Anwendung dieser Pulver ist jedoch ihre Wirkung auf die Gescheine, wovon der folgende Abschnitt berichtet.

3) Wirkung des Arsenstaubes auf die Rebe.

Da die ersten Versuche (mit trocken gemischten Pulvern) zum Teil sehr erhebliche Beschädigungen der Blätter und Gescheine zur Folge gehabt hatten, wurden die Pulver später besonders präpariert (s. o.). Aber auch dadurch konnte die schädliche Wirkung der Arsenverbindungen auf den Stock nicht unterdrückt werden. Auffällig ist, daß da, wo die Beeren selbst nicht notlitten, vielfach ihre Stiele vertrockneten. Die Versuche zur Ermittelung von Arsenpulvern ohne schädliche Nebenwirkung werden fortgesetzt.

4) Bekämpfung des Sauerwurms durch Pulver pflanzlichen Ursprungs.

Diese Versuche entspringen der Absicht, ein für den Menschen ungefährliches Bekämpfungsmittel zu finden. Verschiedene Pflanzenpulver, unter ihnen zunächst das Insektenpulver, kamen zur Anwendung, doch war die Jahreszeit zu weit vorgeschritten, um noch sichere Resultate erzielen zu können.

5) Art der Wirkung der verstäubten Pulver auf die Raupen.

Die direkten Gifte wirken dadurch, daß sie mit der Nahrung in den Darmkanal gelangen. Bei der Kontaktwirkung erscheint es dagegen fraglich, wie sie vor sich geht. Denn während Flüssigkeiten imstande sind, in die Tracheen einzudringen, ist dies bei den Pulvern nicht wahrscheinlich. Hier kommen drei Möglichkeiten in Betracht. Die Pulver können auf die peripheren Endigungen der Nervenzellen einwirken, sie können aber auch durch die Porenkanäle auf das Innere des Organismus einwirken. Eine dritte Möglichkeit ist die, daß sie auf die Oeffnung der Drüsen gelangen und durch die Sekrete gelöst werden.

Morstatt (Geisenheim).

Korff, Die Wühl- oder Mollmaus (Avicola amphibius) und ihre Bekämpfung. (Prakt. Bl. f. Pflanzenschutz und Pflanzenbau. Jahrg. VI. 1908. Heft 9.)

Es wird die Morphologie und Biologie, die Art der durch den Schädling hervorgerufenen Beschädigungen und die Bekämpfung besprochen. Letztere erstreckt sich auf vorbeugende Maßnahmen wie Schutz der Kulturpflanzen durch Umfriedigung der Wurzeln mit Drahtgitter oder auf Vernichtung durch Vergiftung, das Schwefelkohlenstoffverfahren, Abschießen oder Fangen mit Fallen.

Schaffnit (Bromberg).

Burgtorf, Die Vertilgung von Hederich und Ackersenf. (Deutsche landw. Presse. 1908. No. 11.)

In wirksamster Weise könnten diese lästigen Unkräuter durch reine Brache mit häufiger sachgemäßer Bodenbearbeitung bekämpft werden.

Der Boden müßte durch stufenweises Pflügen so oft gewendet werden, daß im Laufe der Bracheperiode die ganze Ackerkrume einmal an die Oberfläche käme, und so die Keimung und Vernichtung des in den einzelnen Bodenschichten lagernden Samens ermöglicht würde. In der Praxis wird ein solches, den Verlust einer ganzen Ernte bedingendes Verfahren aber nur in Ausnahmefällen anwendbar sein. Daher sind wenigstens die Maßnahmen der Bodenbearbeitung in den Pausen zwischen der Ackerbestellung und während der Vegetationszeit so zu wählen, daß die Auskeimung der Unkrautsamen begünstigt und die Vernichtung der aufgelaufenen Pflänzchen bewirkt wird. Für den Landwirt kommen hier als wirksamste Maßnahmen in Betracht: Schälen der Stoppel mit nachfolgender Egge und Schleppe, Pflügen im Herbst zur Saat, Einebnen des Bodens im Frühjahr, Eggen des Weizens, sobald der Boden trocken ist, Eggen des Sommergetreides, sobald sich feine Spitzen des auflaufenden Unkrauts zeigen, Hacken mit der Hand oder Maschine und anderes mehr. Nur wenn diese Arbeiten nicht zum Ziel geführt haben, ist eine Bespritzung mit 15—20-proz. Eisenvitriollösung zu empfehlen.

Vogel (Bromberg).

v. Rümker, Die Unkrautvertilgung. 46 p. Berlin (Paul Parey) 1908.

Mit der vorliegenden Broschüre, welche das 9. Heft der „Tagesfragen aus dem modernen Ackerbau“ bildet, will Verf. dem praktischen Landwirt einen Ratgeber für die Bekämpfung des Unkrauts in die Hand geben. Diesen nützlichen Zweck erfüllt das Werkchen in vollkommenster Weise. Verf. hat nicht nur die einschlägige Literatur ausgiebig und kritisch benutzt, sondern auch reiche eigene Beobachtung und Erfahrung in der Arbeit niedergelegt. Inhaltlich schließt sich die Veröffentlichung an die vor kurzem an dieser Stelle referierten (diese Zeitschr. Bd. XXI. p. 560) Ausführungen v. R.s an. Es soll daher hierauf verwiesen, besonders aber die Lektüre der Originalarbeit selbst empfohlen werden.

Vogel (Bromberg).

Institute etc.

Veröffentlichungen der schweizerischen Samenuntersuchungs- und Versuchsanstalt Zürich.

Flugblatt No. 1 (September 1907) „Das Weizenälchen“.
„ No. 2 („ 1907) »Der Steinbrand“.
„ No. 3 (Februar 1908) „Die Fritfliege“.
„ No. 4 („ 1908) „Der Flugbrand“.
„ No. 5 (März 1908) „Der Kleeteufel“. (Zürich 1907/08.)

In den genannten Flugblättern, die mit Abbildungen versehen sind, wird in gedrängter Kürze eine Darstellung des Krankheitsbildes, der Pilze bezw. Schädlinge gegeben und deren Bekämpfung besprochen. Sie erscheinen als Beilagen zu den Mitteilungen der Schweizerischen Landwirtschaftsdepartements.

Schaffnit (Bromberg).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. Otto Hamann,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines, Lehrbücher u. s. w.

Detmann, H., Aus der pflanzenpathologischen Versuchsstation zu Geisenheim a. Rh. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. XVIII. 1908. Heft 4. p. 210—217.)

Foitik, Th., Gedanken über Pflanzen- und Tierkrankheiten. (Dtsche. landw. Presse. Jg. XXXV. 1908. N. 82. p. 863.)

Handbuch der technischen Mykologie für technische Chemiker, Nahrungsmittelchemiker, Gärungstechniker, Agrikulturchemiker, Landwirte, hrsg. von Franz Lafar. 2. wesentlich erweiterte. Aufl. von Lafar, Techn. Mykol. Jena (Fischer) 1908. Bd. II: Mykologie der Nahrungsmittelgewerbe. Unter Mitwirkung von R. Aderhold, O. Appel, R. Burri u. a. hrsg. Jena, Fischer. IX, 575. 8⁰. 37 Fig. 18,50 M.

Lucksch, Franz, Bakteriologische Wandtafeln. Gezeichnet von Franz und Hedwig Lucksch. Ser. 1. Allg. Tl. (6 Taf.) Leipzig (Klinkhardt) 1908. 80,5 × 106,5 cm. Farbendr. 8 p. Je 5 M.

Originalbericht über die Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie am 11., 12. u. 13. 6. 1908. Beilage zu Abt. I. Bd. LXII. Referate d. Centralbl. f. Bakt. Jena (Fischer) 1908. 8⁰. 5 M.

Reh, Arbeiten der französischen staatlichen entomologischen Station zu Paris. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. XVIII. 1908. Heft 4. p. 221—223.)

Schaffnit, Die in Posen und Westpreußen im Jahre 1907 von der Abteilung für Pflanzenkrankheiten des Kaiser-Wilhelms-Instituts beobachteten Schädigungen der Kulturpflanzen. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. XVIII. 1908. Heft 5. p. 272—274.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Hilgermann, Robert, Ein neuer Filtrationsapparat. (Klin. Jahrb. Bd. XIX. 1908. Heft 3. p. 301—304. 1 Fig.)

Langeron, Maurice, Technique des manipulations complémentaires de parasitologie. (Arch. de parasitol. T. XII. 1908. N. 2. p. 177—191.)

Oelsner, Ludwig, Praktisches Gefäß zur völligen Entwässerung nicht gänzlich absoluten Alkohols. (Dtsch. med. Wchnschr. Jg. XXXIV. 1908. N. 47. p. 2034. 2 Fig.)

Systematik, Morphologie.

Aerts, François, Étude histologique et physiologique de l'appareil de fixation des solénophores. (Arch. de parasitol. T. XII. 1908. N. 2. p. 192—217. 13 Fig.)

Börner, Karl, Ueber Chermesiden. (Zool. Anz. Bd. XXXIII. 1908. N. 17/18. p. 600—616; N. 19/20. p. 647—663. 10 Fig.)

Chatton, Édouard, Note preliminaire sur trois formes nouvelles du genre Blastodinum Chatton. (Bull. de la soc. Zool. de France. T. XXXIII. 1908. N. 6/7. p. 134—137. 4 Fig.)

Eisenberg, Philipp, Ueber Fetteinschlüsse bei Bakterien. Farbchemische Untersuchungen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLVIII. 1908. Heft 3. p. 257—274. 2 Taf.)

Hariot, P., Les Uredinées (rouilles des plantes). Paris 1908. 400 p. 8⁰. 47 Fig. 4,50 M.

Martelli, G., Osservazioni fatte sulle Cocciniglie dell' olive e loro parassiti in Puglia ed in Calabria. (Boll. Laborat. zool. gen. e agrar Scuolo sup. d'agric. Portici. Vol. II. 1908. p. 217—296. 20 Fig.)

Masi, L., Sul numero e sulla denominazione dei parassiti della mosca delle olive. (Boll. d. Laborat. di Zool. gen. e agrar. Scuolo agr. Portici. Vol. II. 1908. p. 185—194. 1 Fig.)

Picard, F., Sur une Laboulbéniacée marine (Laboulbenia marina n. sp.), parasite d'Aepus Robini Laboulbène. (Compt. rend. Soc. biol. T. LXV. 1908. N. 23. p. 484—486. 2 Fig.)

Rothschild, N. Charles, New Siphonaptera. (Proc. Zool. Soc. of London 1908. Part 3. 617—629. 4 Taf.)

Sicard, Henri, Un nouveau parasite de la Pyrale de la vigne. (Rev. de viticult. Année XV. 1908. N. 782. p. 466—467.)

Silvestri, F., Sugli imenotteri parassiti ectofagi della mosca delle olive fine ad ora osservati nell' Italia meridionale. (Boll. Laborat. Zool. gen. e agrar. Scuola sup. Portici. Vol. II. 1908. p. 18—82. 36 Fig.)

—, La tignola dell' oliva (Prays ocellus Fabr.). (Bull. Laborat. Zool. gen. e agrar. Scuola sup. Portici. Vol. II. 1908. p. 83—184. 68 Fig.)

Silvestri, F., Descrizione e prime notizie biologiche dell Ecofillembio dell' olivo. (Oecophyllembius neglectus Silv.). (Boll. d. Laborat. di Zool. gen. e agrar. Scuola sup. d'agricolt. Portici. Vol. II. 1908. p. 195—216. 23 Fig.)

Silvestri, F. e **Martelli, G.**, La cocciniglia del fico (Ceroplastes rusci L.). (Boll. Laborat. Zool. gen. e agrar. Scuola sup. d'agric. Portici. p. 297—397. 24 Fig.)

Solla, Parasitäre Pilze aus der Umgegend von Turin. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. XVIII. 1908. Heft 4. p. 220—221.)

Biologie.

Adler, Beitrag zur Biologie von Inostemma (Platygaster) Boscii jur. (Ztschr. f. wiss. Insektenbiol. Bd. IV. 1908. Heft 8/9. p. 306—307. 1 Fig.)

Alexeieff, A., Sur la division de Hexamitus intestinalis Dujardin. (Compt. rend. soc. biol. T. LXV. 1908. N. 31. p. 402—404. 7 Fig.)

Bogdanov, E. A., Ueber die Abhängigkeit des Wachstums der Fliegenlarve von Bakterien und Fermenten und über Variabilität und Vererbung bei den Fleischfliegen. (Arch. f. Anat. u. Physiol. Jg. 1908. Physiol. Abt. Suppl.-Bd. 1908. p. 173—200. 2 Taf.)

Cordier, M., **Rájat, H.** et **Péju, G.**, Cultures achromogènes de Micrococcus prodigiosus en présence de liquides à haute tension de vapeurs. (Compt. rend. soc. biol. T. LXV. 1908. N. 29. p. 344—345.)

— — —, Influence de la lumière blanche et ses diverses radiations sur la fonction chromogène de Micrococcus prodigiosus. (Compt. rend. soc. biol. T. LXV. 1908. N. 30. p. 376—377.)

Escallon, J. et **Sicre, A.**, Recherche de l'indol dans les cultures microbiennes à l'aide du furfurol. (Compt. rend. soc. biol. T. LXV. 1908. N. 34. p. 507—508.)

Fischer, Ed., Beiträge zur Entwickelungsgeschichte der Uredineen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XXII. 1908. Heft 1/3. p. 89—96. 3 Fig.)

Fuhrmann, Franz, Entwickelungszyklen bei Bakterien. (Beihefte z. botan. Centralbl. Bd. XXIII. Abt. I. 1908. Heft 1. p. 1—19. 1 Taf.)

Fürnrohr, Oskar, Ueber Pilzgifte in Getreide, Würzen und Hefen und die Abhängigkeit ihrer Wirkung von Mineralsalzen. [Schluß.] (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXXI. 1908. N. 48. p. 589—591.)

Hesse, Erich, Lucilia als Schmarotzer. (Biol. Centralbl. Bd. XXVIII. 1908. N. 22. p. 753—758.)

Guiraud et **Maudoul, Henri**, A propos de la signification du Bacillus coli dans les eaux potables. Etude de ce bacille dans les eaux de Toulouse. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XXII. 1908. N. 11. p. 917—926. 2 Fig.)

Gutzeit, E., Die Gärungsprozesse bei der Einsäuerung von Hackfrüchten. (Landw. Wchnschr. f. Pommern. Jg. XI. 1908. N. 51. p. 405—406.)

van Hall, C. J. J. et **Drost, A. W.**, Les balais de sorcière du cacooyer provoqués par Colletotrichum luxificum n. sp. (Rec. des trav. bot. Néerlandais. Vol. IV. 1908. Livr. 4. p. 243—319. 17 Taf.)

Hansen, Emil Chr., Neue Studien über untergärige Bierhefen. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXXI. 1908. N. 50. p. 621—624.)

—, Untersuchungen über die Physiologie und Morphologie der alkoholischen Fermente. [Forts.] (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXV. 1908. N. 50. p. 805—809. 9 Fig.)

Knauer, Friedrich, Die Symbiose der Ambrosiakäfer mit Pilzen. (Centralbl. f. d. ges. Forstwesen. Jg. XXXIV. 1908. Heft 12. p. 498—501.)

Marryat, D. C. E., Chlamydospore formation in the Basidiomycete Pleurotus subpalmatus. (New Phytol. Vol. VII. 1908. p. 17—22. 1 Taf. u. 1 Fig.)

Martelli, G., Note dietologiche sulla mosco delle olive. (Boll. Laborat. Zool. gen. e agrar. Scuola sup. d'agric. Portici. Vol. II. 1908. p. 3—12.)

Much, Hans, Ueber eine Vorstufe des Fibrinfermentes in Kulturen von Staphylococcus aureus. (Biochem. Ztschr. Bd. XIV. 1908. Heft 1/2. p. 142—155.)

Nüsslin, O., Zur Biologie der Gattung Chermes 2. (Biol. Centralbl. Bd. XXVIII. 1908. N. 22. p. 710—725; N. 23. p. 737—753.)

Rostowzew, S. J., Liste des champignons parasites, arrangés selon les plantes hospitalières. (Ann. de l'Inst. agron. de Moscou. Année XIV. 1908. Livre 3. 6 Taf.)

Rouchy, Ch., Formation bactérienne des sulfates dans l'épuration des eaux d'égout. (Journ. de pharmacie et de chim. Année XCIX. Sér. 6. T. XXVIII. 1908. N. 10. p. 439—452.)

Sewerin, S. A., Einige Ergebnisse und Bemerkungen über den sogenannten Bacillus bulgaricus und das Milchsäurepräparat „Lactobacilline". (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XXII. 1908. Heft 1/3. p. 3—22.)

Silvestri, F., Generazioni della mosca delle olive. (Boll. Laborat. Zool. gen. e agrar. Scuola sup. d'agric. Portici. Vol. II. 1908. p. 13—17.)

Th., Das Jubiläum der Reinhefe. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. XXXVI. 1908. N. 49. p. 603—604.)

Vageler, P., Die Bindung des atmosphärischen Stickstoffs in Natur und Technik. Braunschweig 1908. 132 p. 8°. = Die Wissenschaft. Heft 26. 16 Fig. 4,50 M.

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft, Wasser, Boden.

Didier, L'épuration des eaux d'égout. Thèse de Paris 1908. 8°.

Friedberger, E., Versuche über die Verwendbarkeit der amerikanischen Schnellfiltration (Filter der Jewell Filter Company) für die Königsberger Wasserversorgung. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. LXI. 1908. Heft 3. p. 355—453. M. Fig.)

Kaiser, M., Infektion und Desinfektion einer Zentralwasserversorgungsanlage. (Centralbl. f. allg. Gesundheitspfl. Jg. XXVII. 1908. Heft 9/10. p. 382—396. 1 Fig.)

R., Die Grundlagen der hygienischen Wasserbegutachtung. (D. dtsche Essigindustrie. Jg. XII. 1908. N. 50. p. 393—395.)

Raybaud, A., Quelques analyses bactériologiques de l'eau du canal de Marseille. (Compt. rend. soc. biol. T. LXV. 1908. N. 34. p. 543.)

Sartory, La stérilisation de l'air par l'électricité. (Compt. rend. soc. biol. T. LXV. 1908. N. 30. p. 373—374.)

Segale, M., Sur le contenu en germes de l'atmosphère de l'Atlantique du Sud. Arch. Ital. de biol. T. L. 1908. Fasc. 1. p. 73—76.)

Thresh, J. C., The sterilisation of potable water by means of Calcium hypochlorite. (Lancet. 1908. Vol. II. N. 22. p. 1597—1598.)

Nahrungsmittel im allgemeinen.

Christian, Die Salizylsäure als Konservierungsmittel. (Hyg. Rundsch. Jg. XVIII. 1908. N. 22. p. 1321—1331.)

Hatlapa, A., Selbsttätige Temperaturregelung beim Sterilisieren. (Konserven-Ztg. Jg. IX. 1908. N. 48. p. 769—770. 3 Fig.)

Innen- und Außentemperatur bei der Sterilisation. Versuchsstation der Konservenzeitung. (Konservenzeitg. Bd. IX. 1908. N. 19. p. 287.)

Koch, A., Die Haltbarmachung von Gemüse durch Erhitzen. (Konserven-Ztg. Jg. IX. 1908. N. 43—45.)

Fleisch.

Bugge, Ueber die Auswahl geeigneter Muskelstücke für die bakteriologische Untersuchung des Fleisches notgeschlachteter Tiere. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XIX. 1909. Heft 4. p. 145—146.)

Reissmann, E., Kann die Trichinenschau ohne sanitären Nachteil beschränkt und verbilligt werden? [Schluß.] (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XIX. 1908. Heft 2. p. 48—55.)

Milch, Molkerei.

Gerstenberger, H. J., A practical milk cooler. (Journ. American med. assoc. Vol. LI. 1908. N. 16. p. 1328—1329. 1 Fig.)

H. L., Das Blähen der Weichkäse. (Molkerei-Ztg. Hildesheim. Jg. XXII. 1908. N. 46. p. 1323.)

Mazé, Projet de définition du fromage pur. (L'hyg. gén. et appliquée. Année III. 1908. N. 12. p. 730—734.)

Nash, J. T. C., A note on the bacterial contamination of milk as illustrating the connexion between flies and epidemic diarrhoea. (Lancet. 1908. Vol. II. 1908. N. 23. p. 1668—1669.)

Nikolajewa, E. J., Die Mikroorganismen des Kefirs. (Bull. Jard. Imp. bot. Petersbourg. Vol. VII. 1908. p. 121—140.)

Petruschky, Weitere Studien zur Frage des Milchverderbens als Ursache der Säuglingssterblichkeit. [Forts.] (Gesundheit. Jg. XXXIII. 1908. N. 22. p. 684—693.)

Revis, Cecil, The examination of milk for dirt and leucocytes. (Journ. of the R. Instit. of public health. Vol. XVI. 1908. N. 12. p. 754—760.)

Thöni, J., Ueber die mit den Bakterienreinkulturen in der Emmentalerkäserei gemachten Erfahrungen, nebst Bemerkungen über einige andere die Betriebssicherheit fördernde Maßnahmen. (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. XVIII. 1908. N. 50. p. 589—590.)

Weigmann, Huss, H. und **Wolff, A.**, Einige bakteriologische Untersuchungen aus der milchwirtschaftlichen Praxis. (Milchwirtschaftl. Centralbl. Jg. V. 1908. Heft 1. p. 2—12.)

Wolff, A. und **Berberich, F. M.**, Der Einfluß des Salpeters auf die Qualität des Käses. (Molkerei-Ztg. Hildesheim. Jg. XXII. 1908. N. 52. p. 1487—1488.)

Wein, Weinbereitung.

Pozzi-Escot, Emm., Dosage de l'acide succinique dans les vins et dans les liquides fermentés en présence d'acides fixes. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLVII. 1908. N. 14. p. 690—691.)

Meissner, Ueber die Behandlung der Weinfässer und Butten. [Schluß.] (Der Weinbau. Jg. VII. 1908. N. 12. p. 185—190. 35 Fig.)

Trillat, A., L'aldéhyde acétique dans le vin: son origine et ses effets. [Suite.] (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XXII. 1908. N. 10. p. 733—762. 1 Taf.)

—, L'aldéhyde acétique dans le vin: son origine et ses effets. [Fin.] (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XXII. 1908. N. 11. p. 876—895.)

Wohnungen. Abfallstoffe, Desinfektion u. s. w.

Christian, Die Salizylsäure als Konservierungsmittel. (Hyg. Rundsch. Jg. XVIII. 1908. N. 22. p. 1321—1331.)

Czaplewski, Die Desinfektionsanstalt der Stadt Köln. Naturwissenschaft und Gesundheitswesen in Köln. (Festschr. Naturforschervers. Köln 1908. p. 427—437.)

—, Kurzes Lehrbuch der Desinfektion, als Nachschlagebuch für Desinfektoren, Aerzte, Medizinal- und Verwaltungsbeamte unter Zugrundelegung der Einrichtungen der Desinfektionsanstalt der Stadt Köln zusammengestellt. 3. umgearb. Aufl. Bonn (Hager) 1908. X, 178 p. 8°. 3 M.

Disinfecting harness. (Journ. of agricult. Western Australia. Vol. XVI. 1908. P. 6. p. 430.)

Kühl, Hugo, Untersuchungen eines Abwässerschlammes. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XXII. 1908. N. 1/3. p. 1—2.)

Löffler, Heinrich, Das Formaldehydpräparat „Autan" als Desinfektionsmittel für Stallungen, Tierkliniken usw. (Ztschr. f. Veterinärkunde. Jg. XXI. 1909. Heft 1. p. 1—32.)

Ottolenghi, D., Ueber das Desinfektionsvermögen des Quecksilbersublimats. (Vorl. Mitt. Desinfektion. Jg. I. 1908. Heft 5. p. 211—216.)

Weldert, R. und **Röhlich, Karl**, Die Bestimmung der Fäulnisfähigkeit biologisch gereinigter Abwässer. (Mitt. a. d. k. Prüfungsanst. f. Wasservers. u. Abwässerbeseit. Berlin. 1908. Heft 10. p. 26—41.)

Zahn, C. und **Reichle, K.**, Untersuchungen über die Wirkungsweise des Kremerschen Apparates (Ges. f. Abwässerklärung m. b. H. Berlin). (Mitt. a. d. k. Prüfungsanst. f. Wasservers. u. Abwässerbeseit. Berlin. 1908. Heft 10. p. 1—25. 6 Fig.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

Appel, Der Kartoffelkrebs. (Ill. landw. Ztg. Jg. XXVIII. 1908. N. 97. p. 832. 2 Fig.)

Arnim-Schlagenthin, Zur Blattrollkrankheit der Kartoffeln. (Dtsche landw. Presse. Jg. XXXV. 1908. N. 72. p. 761—762.)

Bach, C., Borkenkäfer als Baumschädlinge. (Wchnbl. d. Badischen landw. Ver. 1908. N. 48. p. 884—865.)

Bail, Th., Ueber Pflanzenmißbildungen und ihre Ursachen. (30. Ber. d. westpreuß. bot.-zool. Ver. Danzig 1908. p. 239—256. 6 Taf. u. 4 Fig.)

Baur, Erwin, Ueber eine infektiöse Chlorose von Evonymus iaponicus. (Ber. d. Dtschn. bot. Ges. Jg. XXVI. 1908. Heft 9. p. 711—713.)

Brooks, F. T., Notes on the parasitism of Botrytis. (Proc. Cambridge phil. Soc. 24. 1907. p. 298.)

Busse, W., Der Wurzelbrand der Rüben. (Blätter f. Zuckerrübenbau. Jg. XV. 1908. N. 19. p. 297—300. 1 Taf.)

Carl, A., Der echte Krebs der Obstbäume. (D. prakt. Landwirt. Jg. XXVII. 1908. N. 47. p. 644—646. 6 Fig.)

Cheel, Edwin, Rust in our fruit crops. (Agric. Gaz. of New South Wales. Vol. XIX. 1908. Part 9. p. 750—752.)

Corky scab of potatoes (Spongospora scabies Mass.). (Journ. of the board of agric. Vol. XV. 1908. N. 8. p. 592—599. 1 Taf.)

Deike, F. A., Ueber eine Krankheit des Johannisbeerstrauches (Gloeosporium curvatum). (Hannover. Garten- u. Obstbau-Ztg. Jg. XVIII. 1908. Heft 8. p. 146.)

Detmann, Pflanzenkrankheiten in Connecticut. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. XVIII. 1908. Heft 5. p. 285—288.)

Durand, Elias J., The Geoglossaceae of North America. (Ann. Mycol. Vol. VI. 1908. N. 5. p. 387—477.)

Evans, J. B. Pole, The citrous fruit rot caused by the blue mould, Penicillium digitatum (Fr.) Sacc. (Transvaal agric. Journ. Vol. VII. 1908. N. 25. p. 60—64. 3 Taf.)

—, Potato rot (Nectria solani Pers.). (Transvaal agric. Journ. Vol. VII. 1908. N. 25. p. 64—65. 1 Taf.)

Grosser, Gurkenkrankheiten in Schlesien. (Ztschr. d. Landwirtschaftskammer f. d. Prov. Schlesien, Jg. XII. 1908. Heft 43. p. 1349—1351.)

Hariot, Paul, Sur l'oidium de chêne. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXLVII. 1908. N. 18. p. 816—818.)

Hecker, H., Eine neue Gefahr für die Gurkenkultur; Pseudoperonospora cubensis. (Dtsche landw. Presse. Jg. XXXV. 1908. N. 81. p. 852.)

Herter, Die Hessenfliege und das Schälen der Getreidestoppeln nach der Ernte. (Ill. landw. Ztg. Jg. XXVIII. 1908. N. 85. p. 736—737.)

Hewitt, C. Gordon, The large larch saw-fly. (Journ. of board of agric. Vol. XV. 1908. N. 9. p. 649—660. 1 Taf.)

Jaeger, Julie, Ueber Kropfmißbildung am Apfelbaum. (Ztschr. f. Pflanzenkrankheiten. Bd. XVIII. 1908. p. 257—272. 1 Taf.)

Jösting, Der Kartoffelkrebs, eine bisher in Deutschland unbekannte Krankheit. (Dtsche landw. Presse. Jg. XXXV. 1908. N. 84. p. 883.)

Knischewsky, O., Krankheiten tropischer Nutzpflanzen. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XVIII. 1908. Heft 5. p. 276—285.)

Knischewsky, In Holland beobachtete Pflanzenkrankheiten. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. XVIII. 1908. Heft 4. p. 217—220.)

Kränzlin, E., Untersuchungen an panaschierten Pflanzen. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. XVIII. 1908. Heft 4. p. 193—203. 1 Fig.)

Lilienthal, J. H., The stalk-grub and the cut-worm. (Natal agric. Journ. Vol. XI. 1908. N. 9. p. 1093—1097.)

Linhart, G., Ueber Wurzelbrand der Zucker- und Futterrübe. (Monatshefte f. Landwirtsch. Jg. I. 1908. Heft 11. p. 356—358.)

Lüstner, Gustav, Beobachtungen über das Auftreten von Pflanzenläusen auf den Früchten der Kernobstbäume. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. XVIII. 1908. Heft 4. p. 203—210. 5 Fig.)

Maier-Bode, Abnorme Wachstumserscheinungen bei Kartoffeln. (Prakt. Blätter f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. VI. 1908. Heft 12. p. 135—136.)

Mally, C. W., Maize stalk borer (Sesamia fusca), Maize fodder as a preventive. (Agric. Journ. of the Cape of good hope. Vol. XXXIII. 1908. N. 5. p. 616—624. 2 Fig.)

Marsais, P., Resistance phylloxérique. (Rev. de viticult. Année XV. 1908. N. 782. p. 649—652.)

Maxwell-Lefroy, H., The red cotton bug (Dysdercus cingulatus Fabr.). Pusa (Agric. Research. Inst.) 1908. S. 48—58. 8⁰. (= Memoirs of the Department of Agriculture in India. Entomol. Ser. Vol. II. No. 3.)

Mährlen, Die Reblaus in Württemberg i. J. 1908. (Die Weinlaube. Jg. VII. 1908. N. 11. p. 183.)

von Mohl, C., Die Ursachen der Obstweinkrankheiten. (Wchnbl. d. Badischen landw. Ver. 1908. N. 39. p. 706—707.)

Murrill, W. A., The chestnut canker. (Torreya. Vol. VIII. 1908. p. 111—113.)

Querner, H., Die Bohnenkrankheiten des Jahres 1908. (Ztschr. d. Landwirtschaftskammer f. d. H. Braunschweig. Jg. LXXVII. 1908. N. 31. p. 367—368.)

Raum, Zum Flugbrand des Hafers. (Prakt. Blätter f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. VI. 1908. Heft 12. p. 136—137.)

Reh, Schädliche Insekten im Kapland. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. XVIII. 1908. Heft 5. p. 290—291.)

—, Angewandte Entomologie in Indien. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. XVIII. 1908. Heft 5. p. 291—292.)

—, Ungewöhnlicher Massenfraß von Gespinnstmotten. (Ztschr. f. wiss. Insektenbiol. Bd. IV. 1908. Heft 7. p. 259—262. 3 Fig.)

—, Schädliche Insekten in Deutsch-Ostafrika. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. XVIII. 1908. Heft 4. p. 223—224.)

Riehm, Beschädigungen der Reben und Obstbäume in Hessen. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. XVIII. 1908. Heft 5. p. 274—276.)

Salmon, E. S., A new cherry disease. (Gardener Chron. Vol. XLIII. 1908. p. 209—210.)

Schmitthenner, Die Reblausverseuchung und Rekonstruktion der Weinberge in der Schweiz. (Landwirtsch. Jahrb. Bd. XXXVII. Ergänzbd. 4. 1908. p. 42—70.)

Schneider, Georg, Eine eigenartige, neue Kartoffelkrankheit in Deutschland. (Dtsche landw. Presse. Jg. XXXV. 1908. N. 79. p. 832. 2 Fig.)

Soursac, Louis, Recherches sur le black-rot. (Ann. de l'école nat. d'agric. de Montpellier. N. S. T. VIII. 1908. Fasc. 2. p. 151—160.)

Störmer, Neuere Ergebnisse in der Erforschung der Krankheiten der Zuckerrübe. (Blätt. f. Zuckerrübenbau. Jg. XV. 1908. N. 16. p. 247—254. N. 17. p. 264—269. N. 18. p. 279—283.)

—, Die durch pilzliche Parasiten verursachten Krankheiten. (Landw. Wchnschr. f. d. Prov. Sachsen. Jg. X. 1908. N. 38. p. 331—332; N. 39. p. 340—341; N. 40. p. 347—349; N. 41.)

Swellengrebel, N. H., Sur la nature et les causes de la maladie des taches en couronne chez la pomme de terre. (Arch. Néerl. Sc. Ex. nat. Vol. XIII. 1908. p. 151—198. 8 Taf.)

Sydow, H. et **P.**, Novae fungorum species 5. (Ann. Mycol. Vol. VI. 1908. N. 5. p. 462—464.)

The caterpillar engine. A novel method of traction. (Natal agricult. Journ. Vol. XI. 1908. N. 7. p. 890—892. 1 Taf.)

Thiermann, Epidemisches Auftreten von Sclerotinia baccarum als Folgeerscheinung von Nonnenfraß. (Ann. mycol. Vol. VI. 1908. N. 4. p. 352—353. 1 Fig.)

Thomsen, F., An army worm in the Transvaal. (Transvaal agricult. Journ. Vol· VI. 1908. N. 24. p. 585—589.)

Trabut, Maladie noire des artichauts. (Rev. hort. Algérie. Vol. XII. 1908. p. 81—83.)

Uzel, H., Mitteilung über Schädiger und Krankheiten der im Jahre 1906 in Böhmen mit der Zuckerrübe abwechselnd kultivierten Pflanzen. (Blätt. f. Zuckerrübenbau. Jg. XV. 1908. N. 16. p. 254—258.)

Vosseler, J., Neues über den Heuschreckenpilz. (Der Pflanzer. Jg. IV. 1908. N. 11. p. 171—173.)

Bekämpfung der Rakterien und Parasiten.

Chapelle, J. et **Ruby, J.**, Résultats des expériences contre la mouche de l'Olivier entreprises, en 1908, par le service de l'oléiculture. (Rev. de viticult. Année XV. 1908. N. 780. p. 611—614.)

Godinot, L., Étude des résultats du tir contre la grêle. (Ann. de la Soc. d'agricult., sc. et ind. de Lyon 1907. ersch. 1908. p. 82—91.)

Haselhoff, E., Versuche über Einwirkung schwefeliger Säure auf Boden. (Internat. phytopathol. Dienst. Jg. I. 1908. Stück 3. p. 73—91.)

Henning, E., Huru skall man på enkelt och billigt sätt bekämpa den amerikanska krusbärsmjölldaggen? (Landtmannabladet 1908. 23 p.)

Hiltner, L., Ueber die Organisation des Pflanzenschutzes in Deutschland. (Prakt. Bl. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. VI. 1908. Heft 7. p. 76—82; Heft 9. p. 97—100.)

—, Ueber die Bekämpfung der Feld- und Wühlmäuse. (Prakt. Bl. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. VI. 1908. Heft 10. p. 110—112.)

Hoffmann, Zur Vertilgung des Waldgärtners (Hylesinus piniperda L.). (Amtsbl. d. Landw.-Kammer f. Wiesbaden. Jg. XC. 1908. N. 40. p. 38—39.)

Jungklaus, Zur Vertilgung der Ratten und Mäuse mittels Ratin. (Landw. Wchnschr. f. d. Prov. Sachsen. Jg. X. 1908. N. 42. p. 362—363.)

Kelhofer, W., Ueber einige Gesichtspunkte bei der Herstellung der Bordeauxbrühe. (Internat. phytopathol. Dienst. Jahrg. I. 1908. Stück 3. p. 65—73. 7 Fig.)

Korff, G., Die Wühl- oder Wollmaus (Arvicola amphibius) und ihre Bekämpfung. (Wchnbl. d. Badisch. landw. Ver. 1908. N. 48. p. 862—864.)

Kühle, L., Ein erfolgreicher Versuch zur Bekämpfung des Gerstenflugbrandes. (Dtsche landw. Presse. Jg. XXXV. 1908. N. 68. p. 719.)

Lang, H., Pilztötung mit dem Getreidetrockenapparat. (Ill. landw. Ztg. Jg. XXVIII. 1908. N. 70. p. 603.)

Laubert, R., Pflanzenschutz in England. 7. American gooseberry mildew. (Prakt. Bl. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. 1908. Heft 9. p. 107—108.)

Laubert, R., Pflanzenschutz in England. (Prakt. Blätter f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. VI. 1908. Heft 12. p. 137—141.)

Lounsbury, Chas. P., Wooly Aphis aud tobacco extract. (Agricult. Journ. of the Cape of good hope. Vol. XXXIII. 1908. N. 2. p. 188—193. 1 Taf.)

Lüstner, Gustav, Ueber die diesjährigen Erfahrungen bei der Heu- und Sauerwurmbekämpfung. [Schluß.] (Mitt. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. Jg. XX. 1908. N. 10. p. 147—151.)

Meier, Ernst, Erprobte und bewährte Mittel gegen die hauptsächlichsten Schädlinge der Gartengewächse. Zürich (Schröter) 1908. 29 p. 14 Fig. 8°. —,10 M.

Meissner, Ueber die Behandlung der Weinfässer und Butten. [Forts.] (Der Weinbau. Jg. VII. 1908. N. 11. p. 171—174. 4 Fig.)

—, Versuch zur Bekämpfung der Reblaus mit Reflorit. (Mitt. d. Dtschn. Weinbau-Ver. Jg. III. 1908. N. 11. p. 372—374.)

—, Versuch über die Bekämpfung der Peronospora mit Kochsalzlösung. (Der Weinbau. Jg. VII. 1908. N. 11. p. 175.)

—, Ueber das Peronosporabekämpfungsmittel Tenax. (Die Weinlaube. Jg. VII. 1908. N. 11. p. 175—176. 2 Fig.)

—, Versuch zur Bekämpfung von tierischen und pflanzlichen Rebenschädlingen mit dem Bekämpfungsmittel von Henninger-Stuttgart. (Die Weinlaube. Jg. VII. 1908. N. 11. p. 179.)

—, Versuche mit Reflorit. (5. Ber. d. kgl. Württemb. Weinbau-Versuchsanst. Weinsberg i. J. 1907. p. 35—56.)

—, Ein empfehlenswerter Schwefelverteiler. (5. Ber. d. kgl. Württemb. Weinbau-Versuchsanst. Weinsberg i. J. 1907. p. 74—76. 1 Fig.)

—, Versuche zur Bekämpfung der Rebenschildläuse. (5. Ber. d. kgl. Württemb. Weinbau-Versuchsanst. Weinsberg i. J. 1907. p. 86—87.)

—, Ueber die Wirkung einiger Bekämpfungsmittel der Peronospora und des Oidiums. (5. Ber. d. kgl. Württemb. Weinbau-Versuchsanst. Weinsberg i. J. 1907. p. 87—89.)

—, Versuche zur Bekämpfung des Heu- und Sauerwurms mit Kupferkalkarsen. (5. Ber. d. kgl. Württemb. Weinbau-Versuchsanst. Weinsberg i. J. 1907. p. 89—90.)

—, Versuch zur Bekämpfung der Reblaus mit Reflorit. (Der Weinbau. Jg. VII. 1908. N. 10. p. 158—160.)

—. Versuch zur Bekämpfung der Reblaus mit Reflorit. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXV. 1908. N. 1—2. p. 465—467. Hierzu Nachtrag von dal Piaz.)

Quinn, Geo., Bordeaux mixture and other fungicides. (Journ. of agricult. of South Australia. Vol. XII. 1908. N. 2. p. 146—149.)

Reille, Destruction par l'arsenic des insectes nuisibles à l'agriculture. (Ann. d'hyg. publ. et de méd. légale. Sér. 4. T. IX. 1908. p. 305—325.)

Schätzlein, Christian, Ueber die Ermittelung des Kupfergehaltes von Kupferkalk- und Kupfersoda-Spritzbrühen durch Bestimmung ihres spezifischen Gewichts. (Der Weinbau. Jg. VII. 1908. N. 10. p. 157—158; N. 11. p. 179—180; N. 12. p. 193—196.)

Schutz der Bodenkultur gegen Insekten (Neudr.). Beil. d. Kärntner Gemeindeblattes. Klagenfurt (Heyn) 1908. 8°. 3 p. —,15 M.

Sofer, L., Die Bekämpfung und Tilgung der als Krankheitsüberträger in Betracht kommenden Insekten. (Therapeut. Monatsh. Jg. XXII. 1903. Heft 10. p. 505—508.)

Störmer, K., Die Bekämpfung der Blutlaus und ähnlicher Schädlinge an Obstbäumen. [Schluß.] (Landw. Wchnschr. f. d. Prov. Sachsen. Jg. X. N. 48. p. 409—411; N. 49. p. 419—421.)

Uteau, R. et **Perpezat, Frédéric**, Quelques observations sur le traitement de l'Eudémis. (Rev. de viticult. Année XV. 1908. N. 782. p. 656—658.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

Originalreferate über bakteriologische und gärungsphysiologische etc. Institute, Laboratorien etc.

Kaiser-Wilhelms-Institut für Landwirtschaft in Bromberg.

Referate.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Institute etc.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Abgeschlossen am 23. Januar 1909.

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XXII. No. 18|23.

Zwei Saccharomyceten aus Sakéhefe.

[Mitteilungen der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München.]

Von **R. Nakazawa** aus Tokyo.

Mit 8 Figuren und 1 Kurve.

Bei der Sakébereitung kommen auch heute noch vorherrschend spontan sich einstellende Hefen in Betracht. Dementsprechend dürfte auch die Zusammensetzung der Sakéhefe nach Art und Rasse an den verschiedenen Braustätten eine verschiedene sein und, abgesehen von anderem, die Güte des Produktes beeinflussen. In dieser Voraussetzung ist man auch dazu übergegangen, dem Beispiel der anderen Gärungsgewerbe folgend, Reinkultur schon zur Vergärung des „Moto“ anzuwenden.

Bis jetzt sind, abgesehen von den Arbeiten von Yabe[1]) und von Kozai[2]), Untersuchungen an Sakéhefe nicht ausgeführt worden. Dieser hat aus Hefe, welche sich bei der „Moto“-Herstellung entwickelte, Reinkulturen dargestellt und Versuche in größerem Maßstabe mit ihnen durchgeführt. Für die von ihm verwendeten Kulturen macht er auch nähere Angaben über Morphologie und Physiologie.

Ich habe einen mehrmonatlichen Aufenthalt im physiologischen Laboratorium der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München unter anderem dazu benützt, an einer gewöhnlichen Sakéhefe, welche Herr E. Itschikawa bei einem Besuche dieses Institutes im Jahre 1898 dessen Hefensammlung schenkte, Studien anzustellen.

Die Sakéhefe, die also keine Reinkultur darstellte, war seit dem Jahre 1898 von Herrn Prof. Dr. H. Will in 10-proz. Saccharoselösung aufbewahrt worden, wobei sich ihre ursprüngliche Zusammensetzung kaum wesentlich geändert haben dürfte, obgleich sie zweimal, und zwar am 21. Dezbr. 1903 und am 14. März 1906, aufgefrischt worden war.

Von der Saccharoselösung habe ich nach Verteilung des Bodensatzes in der Flüssigkeit 1 Tropfen in dunkle, ungehopfte Münchener Bierwürze von 12 Proz. B. in einem Pasteur-Kolben geimpft und die Hefe bei 25° C zur Vermehrung gebracht.

Nach 24 Stunden traten Gärungserscheinungen auf; nach 3 Tagen hatte sich ein starker, fast farbloser Bodensatz gebildet. Aus diesem Bodensatz konnte ich durch Tröpfchenkultur mit ungehopfter Würze bei einem vorläufigen Vergleich der in größerer Zahl gewonnenen Reinzuchten 2 Arten von Hefe trennen. Das Mengenverhältnis der beiden Arten in dem Ausgangsmaterial war 3:5. Ueber beide Hefen soll im folgenden kurz berichtet werden. Ich bezeichne sie zunächst als Sakéhefe I und Sakéhefe II.

---

1) Imp. Univ. Coll. of Agric. Tokyo. Bull. Vol. III. 1897. p. 221.
2) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VI. 1900. p. 385.

1. Größe und Form der Zellen.

Die in ungehopfter Würze gewachsenen Hefen unterscheiden sich durch die Form der Zellen nicht voneinander. Die Zellen der nach der Hauptgärung entstandenen Bodensatzhefe sind kugelförmig bis gestreckt-ellipsoidisch und wurstförmig; bei beiden stellen sich Riesenzellen mit großen Vakuolen in geringer Zahl ein, häufig sind ovoidische und birnförmige Zellen. Die Zellen von Sakéhefe II sind durchschnittlich etwas größer als diejenigen von Sakéhefe I. Bei Sakéhefe I messen die kugelförmigen Zellen zwischen 1,2 und 3,2 μ. Der Längsdurchmesser der ellipsoidischen bis gestreckt-ellipsoidischen und wurstförmigen Zellen bewegt sich zwischen 3,0 und 14,0 μ; der Querdurchmesser zwischen 2,0 und 9,0 μ. Bei Sakéhefe II dagegen beträgt der Durchmesser der kugelförmigen Zellen 3,2—6,4 μ, der Längsdurchmesser bei den ellipsoidischen, gestreckt-ellipsoidischen und wurstförmigen 4,5—20,8 μ, der Querdurchmesser 3,2—7,2 μ.

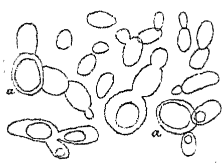


Fig. 1.

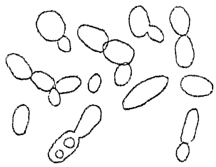


Fig. 2.

Fig. 1. Hefe I. Saccharomyces Tokyo. Gärform aus ungehopfter Dextrosewürze, bei α Riesenzellen. 1:500.

Fig. 2. Hefe II. Saccharomyces Yedo. Gärform aus ungehopfter Dextrosewürze. 1:500.

2. Wachstumserscheinungen in Nährflüssigkeiten.

a) Erscheinungen in der Tröpfchenkultur.

Das homogene Plasma, in welchem sich die Vakuolen scharf abheben, enthält keine oder nur sehr wenige Granula. In den Tröpfchenkulturen wird der Sproßverband bald gelöst und die Zellen zerstreuen sich über die Nährflüssigkeit hin. Diese Erscheinungen in Verbindung mit dem mäßigen Lichtbrechungsvermögen des Protoplasmas prägen aber die Kolonieen in den Tröpfchenkulturen zu solchen von wilder Hefe.

b) Erscheinungen in größeren Nährflüssigkeitsmengen.

Als Nährflüssigkeiten dienten folgende:

1) Ungehopfte Bierwürze von 12 Proz. B.
2) Neutrales Hefenwasser[1]) mit 5 Proz. Saccharose.
3) Peptonlösung von folgender Zusammensetzung:

0,5 g	$CaHPO_4$	auf 1 Liter destilliertes Wasser
4,55 „	KH_2PO_4	
2,1 „	$MgSO_4$	
20,0 „	Pepton Witte	

4) Die gleiche Peptonlösung mit Zusatz von 5 Proz. Saccharose.
5) Kossowicz-Nährlösung[2]) von folgender Zusammensetzung.

5	Proz.	Saccharose
0,4	„	KCl
0,4	„	$(NH_4)_2HPO_4$
0,4	„	$MgSO_4$
0,04	„	$CaHPO_4$

Die Nährlösungen 2—5 waren in Mengen von 100 ccm in großen Erlenmeyer-Kolben bei 3 cm Flüssigkeitshöhe so abgefüllt, daß sie

1) Will, H., Hefenwasser zur biologischen Analyse. (Zeitschr. ges. Brauw. Bd. XXIV. 1901. p. 289.)

2) Zeitschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Sonder-Abdruck. 1903. p. 2.

eine große Oberfläche darboten. Damit sollte Gelegenheit zu Hautbildung gegeben sein. Die Kulturen blieben im Laboratorium bei 20°—25° C stehen und wurden nahezu 1 Monat beobachtet. Einsaatmenge 1 und 3 Tropfen aus dem Bodensatz einer 2 Tage alten Kultur in ungehopfter Dextrosewürze [1]).

1. Ungehopfte Bierwürze von 12 Proz. B.

Die beiden Hefen sind untergärig. Sie wurden nach dieser Richtung zunächst in der Weise geprüft, daß sterile, ca. 40 cm hohe Standzylinder von 3,5 cm Durchmesser mit der sterilen ungehopften Würze gefüllt, diese mit 2 Tropfen Hefe aus dem Bodensatz einer 2 Tage alten Dextrosewürzekultur geimpft, und dann die Zylinder mit steriler Watte locker verschlossen wurden. Zur Kontrolle diente die obergärige Hefe 25 [2]).

Sakéhefe II gärt langsamer an als Sakéhefe I. Während Oberhefe 25 Auftrieb in der charakteristischen Weise zeigte, war ein solcher bei den beiden Hefen aus Saké nicht zu beobachten. Sie verhielten sich vielmehr wie untergärige Hefen. Ob nicht bei beiden Hefen die Auftriebserscheinung verloren gegangen war und durch eine besondere Behandlung wieder hervorgerufen werden konnte [3]), wurde nicht geprüft. Die Sakégärung verläuft obergärig. Die Bodensatzhefe, welche nach dem Abgießen der vergorenen Würze mit Wasser aufgeschüttelt wurde, setzte sich nicht unter Flockenbildung, wie bei untergärigen Bierhefen ab; sie blieb staubig verteilt, die Zellen setzten sich jedoch viel langsamer als bei der Oberhefe 25 ab. Während bei Oberhefe 25 der Bodensatz locker lag, zeichnete er sich bei den beiden Arten aus Sakéhefe durch große Festigkeit aus; er war erst durch stärkeres Schütteln im Wasser verteilbar.

Bei den Versuchen in Erlenmeyer-Kolben trat bei einer Einsaat von 3 Tropfen Bodensatzhefe nach 24 Stunden starke Gärung auf, die nach 3—4 Tagen beendigt war. Die Flüssigkeit klärte sich vollständig. Die Bodensatzhefe war rein weiß. Weitere Mitteilungen über das Verhalten der beiden Hefen in Würze finden sich in dem Abschnitt: Hautbildung.

In den Kulturen 2—5 traten einzelne charakteristische Wachstumserscheinungen in verschiedener Abstufung auf, welche sowohl zur Unterscheidung der beiden Sakéhefen unter sich als auch von anderen Hefen brauchbare Merkmale abgeben.

2. Neutrales Hefenwasser mit 5 Proz. Saccharose.

Sakéhefe I. Bei Beginn der nach der Größe der Hefeneinsaat früher oder später einsetzenden Gärung trübte sich die Nährflüssigkeit anfangs, wurde aber bis zum 5. Tage wieder völlig klar. Innerhalb 17 Tagen hatte Haut- und Ringbildung begonnen und war ziemlich stark, je nach der Einsaatmenge verschieden, ausgebildet. Bei der Einsaat von 3 Tropfen fanden sich scharf begrenzte Hefeninselchen in sehr großer Anzahl. Ringbildung ziemlich stark. Bodensatz gleichmäßig, die oberen Teile locker, die unteren fest, auf seiner Oberfläche zahlreiche, scharf begrenzte, mehr oder weniger kugelförmige Hefenkolonieen, welche aus

---

1) Zu ungehopfter Würze von 12 Proz. B. 3 Proz. Dextrose zugesetzt.

2) Regensburger, Paul, Vergleichende Untersuchungen an drei obergärigen Arten von Bierhefe. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. p. 290.)

3) Vergl. Schönfeld, F. und Rossmann, H., Vererbung und Anerziehung von Eigenschaften bei obergäriger Hefe. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. XXV. 1908. p. 525.)

den zu Boden gesunkenen Hefeninselchen der Oberfläche entstanden sind. Nach 1 Monat waren diese Erscheinungen noch schärfer ausgeprägt. Beachtenswert ist, daß die Hefeninselchen die später bei der Hautbildung auf ungehopfter Würze beschriebene Ausbildung, welche sie von denjenigen der Sakéhefe II unterscheidet, besitzen.

Sakéhefe II. Die Energie, mit welcher die Gärung erfolgte, war die gleiche, wie bei Sakéhefe I. Hefeninselchen fanden sich unter den gleichen Bedingungen, wie bei Sakéhefe I in geringerer Zahl vor, ein Unterschied, der sich gleichmäßig bei den Kulturen mit geringerer und größerer Aussaat wiederholte. Die Schnelligkeit der Hautentwickelung scheint also in der vorliegenden Nährlösung geringer, als in ungehopfter Würze zu sein. Dagegen sind auf der Oberfläche des Bodensatzes, der die gleiche Beschaffenheit, wie bei Sakéhefe I besitzt, Hefenkolonieen zahlreicher vorhanden und kräftiger entwickelt. Die geringere Hautbildung bei Sakéhefe II und das gegenüber der Würze verschiedene Verhalten dürfte also nur scheinbar sein und damit seine Erklärung finden, daß die Hefeninselchen sehr rasch zu Boden sinken.

Bei beiden Hefen ist die Nährflüssigkeit und die Hefe des Bodensatzes stark rotgelb gefärbt.

3) Peptonlösung.

Die Hefen vermehrten sich sehr gut. Die Nährlösung blieb während der ganzen Dauer des Versuchs klar. Haut- oder Ringbildung trat selbst innerhalb eines Monates weder bei Sakéhefe I noch bei Sakéhefe II hervor.

Im lockeren Absatz, der zum größeren Teil aus Ausscheidungen bestand, fanden sich dichtere Hefenkolonieen eingelagert. Ein Unterschied zwischen Sakéhefe I und Sakéhefe II kam nicht zur Geltung.

4) Peptonlösung mit 5 Proz. Saccharose.

Innerhalb 24 Stunden traten Gärungserscheinungen auf, die Flüssigkeit trübte sich, klarte aber bei Sakéhefe II schon am 3. Tage wieder auf. Am 5. Tage waren beide Kulturen wieder völlig klar geworden.

Bei Sakéhefe I, Einsaat 1 Tropfen, kam es zu einer mäßigen Ringbildung; bei Sakéhefen II, 3 Tropfen, waren vereinzelte Hefenkolonieen längs des Flüssigkeitsrandes zu beobachten. Im übrigen fand sich keine Oberflächenvegetation vor. Ein sehr charakteristisches Aussehen besaß die Oberfläche des Bodensatzes, welche durch Aufwulstungen wie von einem weitmaschigen Netz bedeckt war. Zwischen den Maschen des Netzes befanden sich größere und kleinere Höcker, deren Entwickelung offenbar auf die gleiche Ursache wie die Wulstbildung zurückzuführen war. In der Ausbildung des Netzes und der Höcker besteht zwischen Sakéhefe II und Sakéhefe I ein Unterschied, jedoch nur ein gradueller; bei Sakéhefe I ist diese Ausbildung der Oberflächengestaltung viel stärker und viel schärfer ausgeprägt als bei Sakéhefe II. Dieser Unterschied blieb auch bis zum Abschluß des Versuches nicht nur erhalten, sondern er wurde auch noch verschärft.

5) Kossowicz-Lösung bietet den beiden Hefen jedenfalls die ungünstigste Nahrungsquelle. Der ziemlich starke Absatz besteht zum größten Teil aus Ausscheidungen aus der Nährlösung. Der Absatz liegt locker, ist aber gleichmäßig dicht. Auf der Oberfläche des Absatzes sind zahlreiche, größere Hefekolonieen sichtbar, die Oberfläche selbst zeigt zahlreiche Vertiefungen. Weder Haut- noch Ringbildung.

3. Wachstumserscheinungen auf festen Nährböden.

Zur Beobachtung kam zunächst nur das Wachstum auf 10-proz. ungehopfter Würzegelatine.

a) Einzellkolonieen. Die Form der Kolonieen, welche sich in der Böttcherschen feuchten Kammer bei Laboratoriumstemperatur nach 30 Stunden entwickelt hatten, zeigte völlig unregelmäßiges Wachstum, also den Typus III[1]), wenngleich sie sich bei Sakéhefe I auch etwas mehr dem Typus II (unregelmäßig mit regelmäßigem Kern) näherte. Bei Sakéhefe I hatten sich nach 44 Stunden die Unregelmäßigkeiten zum größten Teil ausgeglichen und näherten sich die Kolonieen sehr dem Wachstumstypus I. Bei Sakéhefe II, deren Randpartie im Gegensatz zu den Kolonieen von Sakéhefe I meist gestreckte Zellformen aufwiesen, fand dagegen während derselben Zeit kein Ausgleich statt. Der Rand der allerdings mehr oder weniger abgerundeten Kolonieen blieb vollständig unregelmäßig.

Die beiden Hefen unterscheiden sich also durch ihre Einzellkolonieen auf 10-proz. ungehopfter Würzegelatine sehr deutlich.

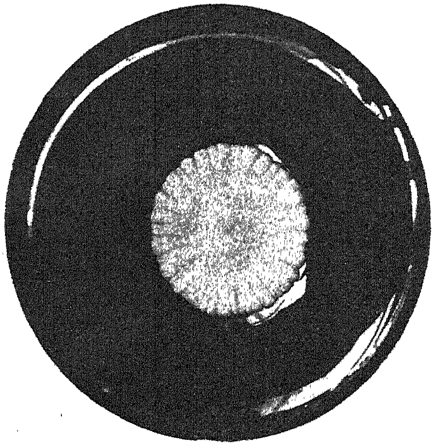


Fig. 3.

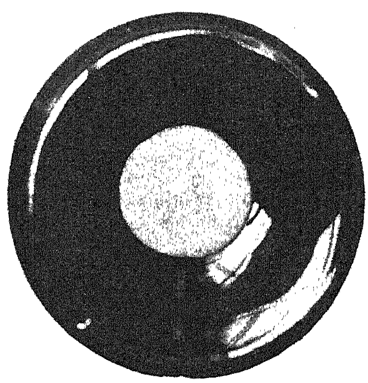


Fig. 4.

Fig. 3. Hefe I. Saccharomyces Tokyo. Riesenkolonie auf 10-proz. Würzegelatine bei Zimmertemperatur nach einem Monat. Nat. Größe.
Fig. 4. Hefe II. Saccharomyces Yedo. Riesenkolonie desgl.

b) Riesenkolonieen. Die Riesenkolonieen wurden in der üblichen Weise in Erlenmeyer-Kölbchen, welche etwa 2 cm hoch mit ungehopfter Würzegelatine gefüllt waren, angelegt. Die Aussaat war 2 Tage alt und bei 25° C herangezüchtet; sie wurde mit einer Kapillare in Form eines kleinen Tröpfchens aufgetragen. Die Kulturen blieben bei Zimmertemperatur stehen und entwickelten sich innerhalb 30 Tagen sehr kräftig.

Die Kolonieen der beiden Hefen unterscheiden sich sehr wesentlich voneinander. Bei Sakéhefe I sind schmale, scharf abgesetzte „Ströme" [2]) deutlich ausgeprägt. Infolgedessen erscheint auch die Randpartie vielfach gebuchtet. Auf der Oberfläche ist eine konzentrische Streifung

---

1) Will, H., Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. (Zeitschr. ges. Brauw. Bd. XXI. 1898. p. 447.)
2) Will, H., l. c. Zeitschr. ges. Brauw. Bd. XXV. 1902. p. 266.

sichtbar. Die Oberfläche der Riesenkolonieen von Sakéhefe II dagegen zeigt kaum eine Andeutung von Strombildung, nur in sehr breiten Abständen ist eine etwas tiefere Furchung zu erkennen. Konzentrische Streifung fehlt, die Oberfläche ist glatt. Die Farbe der Riesenkolonieen zeigt nichts Außergewöhnliches.

Die Unterseite gleicht mit ihren kräftigen Anhängen, welche tief in die Gelatine hineinwachsen, den meisten Riesenkolonieen anderer Saccharomyceten. Diese Anhänge sind, wie gewöhnlich, aus Sproßverbänden sehr langgestreckter Zellen zusammengesetzt.

An der Unterseite der Randpartie sind die Zellen zunächst im allgemeinen noch kürzer, Sproßverbände von langestreckten Zellen, wie sie die Anhänge zusammensetzen, noch selten.

Die Anhänge der Unterseite nehmen dementsprechend von der Randpartie nach der Mitte an Umfang zu. Die Zellen der Oberfläche der Riesenkolonieen sind bei Sakéhefe I, in der Mitte von jenen sehr langgestreckt und schmächtig, am Rande dagegen gedrungener und der Bodensatzhefe aus Gärungen ähnlicher.

Die Zellen der Oberfläche der Riesenkolonieen von Sakéhefe II sind dagegen in der Mitte ebenso gedrungen wie an der Oberfläche der Randpartie, jedoch fehlen langgestreckte dünnere Zellen nicht. Das Vorherrschen der gedrungeneren Zellform ist wohl auch die Ursache der geringen Gliederung der Oberfläche der Riesenkolonieen.

4. Sporenbildung.

Die Sporenbildung tritt bei den beiden Hefenarten unter geeigneten Bedingungen leicht auf. Die Vermehrung der Hefen in ungehopfter Würze von 12 Proz. B. ist für die Sporenbildung günstiger als in gehopfter Würze von der gleichen Konzentration. Helle ungehopfte Würze ist besser als dunkle gehopfte und ungehopfte Würze. Ein Zusatz von 3 Proz. Dextrose zu heller Würze begünstigte die Sporenbildung noch mehr, ein Zusatz von 1 Proz. Pepton verringerte zwar ebenfalls die Zeitdauer, innerhalb welcher die Sporenbildung auftrat, jedoch nicht in dem Maße, wie bei Zusatz von Dextrose.

Die Sporenkulturen wurden in der üblichen Weise auf dem Gipsblock angelegt. Bei der Vorbereitung der Hefe zur Sporenbildung wurde nach den Ergebnissen der vorstehenden Versuche helle ungehopfte Bierwürze mit einem Zusatz von 3 Proz. Dextrose gewählt. In dieser blieben die Kulturen bei 25° C 2 Tage lang, ein Zeitraum, der sich bei Vorversuchen mit den verschiedenen Nährlösungen als der günstigste für den Eintritt der Sporenbildung erwiesen hatte.

Unter diesen Bedingungen wurden die ersten Teilungsvorgänge zur Einleitung der Sporenbildung bis jetzt nach folgenden Zeiten bei den angegebenen Temperaturen beobachtet.

	Sakéhefe I		Sakéhefe II
41° C	—	41° C	—
35° C	21^h	35° C	18^h
31° C	16^h	31° C	14^h
25° C	$18^1/_2{}^h$	25° C	26^h
20° C	$69^1/_2{}^h$	20° C	$67^1/_2{}^h$
14° C	10^d	14° C	11^d
10° C	nach 2 Monaten Spuren	10° C	—

Bei 41° C wurden die Sporenkulturen in 2 Versuchsreihen während 3 Wochen beobachtet.

Bei Sakéhefe I konnte, da die Untersuchungen aus äußeren Gründen abgebrochen werden mußten, die Minimaltemperatur nicht mehr festgestellt werden, sie dürfte nicht weit unterhalb 10° C liegen.

Bei Sakéhefe II dürfte die Minimaltemperatur für die Sporenbildung erreicht sein.

Form der Sporen kugelförmig, mit ungeschichteter Haut. Größe bei Sakéhefe I 3,2—4,0 μ, bei Sakéhefe II 2,4—4,0 μ.

Die Keimung vollzieht sich nach Typus I Hansen durch einfache Sprossung.

5. Verhalten gegen verschiedene Zucker.

Die Fähigkeit, die zum Versuch verwendeten Zucker zu vergären, wurde zunächst nach der Kleingärmethode von P. Lindner geprüft. Sakéhefe I und II vergoren in wiederholten Versuchsreihen, nach den äußeren Erscheinungen beurteilt, sehr kräftig Saccharose, weniger Dextrose, Sakéhefe II in gleicher Weise auch Galaktose und Maltose, während diese beiden Zucker von Sakéhefe I nur schwach gespalten wurden. Laktose zeigte innerhalb der Versuchsdauer von mehreren Tagen bei beiden Hefen keine Gärungserscheinungen. Da die Kleingärmethode jedoch nur zur Orientierung benützt werden kann und daher solche Zuckerarten, welche bei der Kleingärmethode während der kurzen Versuchsdauer nicht in Alkohol und Kohlensäure zerlegt werden, durch Kulturen in größerem Maßstabe geprüft werden müssen, welche längere Zeit hindurch zu beobachten sind, so wurde auch ein solcher Versuch angestellt. Als Nährflüssigkeit diente dabei neutrales Hefenwasser mit einem Zusatz von 5 Proz. Laktose, welches in Mengen von 100 ccm auf Erlenmeyer-Kölbchen abgefüllt war. Eingesät wurde ein Tropfen dickbreiiger Hefe aus dem Bodensatz einer 2 Tage alten Kultur in ungehopfter Dextrosewürze. Nach einem Monat konnte in der Nährflüssigkeit kein Alkohol nachgewiesen werden. Die Raffinose wird wohl von beiden Hefen gespalten, die Melibiose aber, wie ein dahinzielender, längere Zeit hindurch beobachteter, besonderer Versuch zeigt, nicht vergoren. Beide Hefen verhielten sich also wie obergärige.

	Sakéhefe I	Sakéhefe II
Dextrose	++	++
Saccharose	+++	+++
Galaktose	+	++
Maltose	+	++
Laktose	—	—
Raffinose	+++	+++

\+ = Vergärung, die Anzahl der + drückt die Stärke der Vergärung aus.
— = Keine Vergärung.

6. Hautbildung.

Auf ungehopfter Bierwürze mit einem Zusatz von 3 Proz. Dextrose tritt Hautbildung sehr bald auf. Die Hautinselchen zeigen eine sehr scharf ausgeprägte Form; es sind kleine, bestimmt begrenzte Kolonieen von trockener Beschaffenheit. Die zentrale Partie hebt sich sehr scharf von der stromartig ausgebildeten Randpartie ab. Während die Randpartie der Kolonieen bei beiden Hefen in der Hauptsache übereinstimmt, bestehen hinsichtlich der zentralen Partie Unterschiede. Bei Sakéhefe I erscheint diese eben und hoch erhoben, während sie bei Sakéhefe II napfförmig vertieft ist.

Durch diese Ausbildung unterscheiden sich die Hautinselchen der

beiden Sakéhefen, soweit sich bis jetzt übersehen läßt, von denjenigen der ober- und untergärigen Bierhefen, der bis jetzt beschriebenen wilden Hefen und der Torulaceen. Sie bilden einen eigenen Typus.

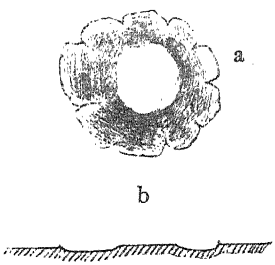


Fig. 5.

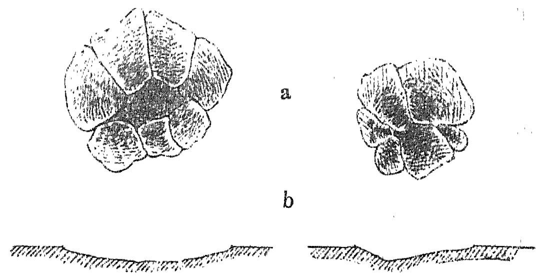


Fig. 6.

Fig. 1. Hefe I. Saccharomyces Tokyo. a Hautinselchen auf Würze, Aufsicht. 1 : 10, b Querschnitt.
Fig. 2. Hefe II. Saccharomyces Yedo. a Hautinselchen auf Würze, Aufsicht. 1 : 10, b Querschnitt.

Die Entwickelung der Haut bei verschiedenen Temperaturen ist aus folgender Zusammenfassung ersichtlich.

Sakéhefe	I	35° C	Weder Haut- noch Ringbildung
„	II	35° C	„ „ „ „
„	I	25° C	15 Tage dünne Haut
„	II	25° C	10 „ „ „
			15 Tage dicke Haut, aber nicht geschlossen
„	I	20° C	15 Tage Inselchen, 26 Tage dünne Haut
„	II	20° C	10 Tage Inselchen
„	I	14° C	15 Tage Inselchen, 17 Tage Ring gebildet
			20 Tage Ring ziemlich stark herangewachsen
„	II	14° C	15 Tage Inselchen
„	I	7—9° C	96 Tage dünne Haut
„	II	7—9° C	3 Monate Inselchen

Die Hautbildung erfolgte bei Sakéhefe II etwas rascher als bei Sakéhefe I. Eine vollständig geschlossene Haut war selbst bei 4 Monate alten, sehr ruhig stehenden Kulturen nicht vorhanden; es sinken fortwährend Teile der Haut in größerem oder geringerem Umfange zu Boden. Die Oberflächenvegetationen alter Kulturen der beiden Hefen unterscheiden sich jedoch sehr wesentlich voneinander. Bei allen Temperaturen sind bei Sakéhefe I selbst in Hautbildungen von größerer Ausdehnung in der Regel die bis zu 3 mm in der Fläche messenden Hautinselchen mit scharfer Umgrenzung noch sehr deutlich zu erkennen. Sie verschmelzen sichtlich sehr schwer; der innere Zusammenhalt der Haut ist bei dieser Hefe ein sehr geringer, die Oberflächenvegetationen sinken infolgedessen sehr leicht zu Boden und sind daher auch nur selten größere Flächen der Flüssigkeit von einer ausgedehnteren, lückenlosen, fettig glänzenden Haut bedeckt. Aeltere Oberflächenvegetationen sind bei trockener Beschaffenheit gelblichbraun gefärbt.

Im Gegensatz zu Sakéhefe I entstehen bei Sakéhefe II auf ruhig stehenden Kulturen sehr starke und nahezu lückenlose, glänzende Häute von gelblichweißer Farbe und schleimiger Beschaffenheit. Wenn auch die Umgrenzung einzelner Hautinselchen in älteren Kulturen vielfach noch deutlich zu erkennen ist, so verschmelzen sie unzweifelhaft viel früher und viel leichter als bei Sakéhefe I. Die Folge davon macht sich

in der Entwickelung sehr starker Oberflächenvegetationen bemerkbar, die anfangs durch die Zusammensetzung aus einzelnen Hautinselchen wie marmoriert aussehen, später aber eine gleichmäßige Beschaffenheit annehmen.

Die Oberflächenvegetationen bestehen aus verschieden geformten Zellen. Teilweise gleichen diese den Zellen des Bodensatzes während der Hauptgärung, teils sind es Sproßverbände sehr langgestreckter Zellen,

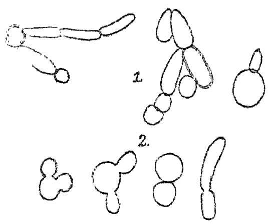


Fig. 7.

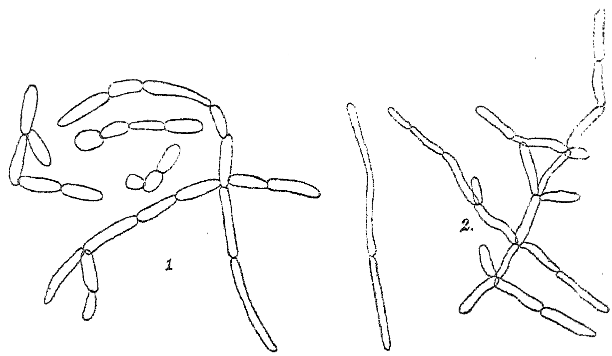


Fig. 8.

Fig. 7. Hefe I. Saccharomyces Tokyo. Hautzellen auf Würze, 1:500.
Fig. 8. Hefe II. Saccharomyces Yedo. Hautzellen auf Würze, 1:500.

die sich auch im Bodensatz wiederfinden. Langgestreckte Zellen sind vorherrschend. Ein Unterschied zwischen der Zusammensetzung der Haut von Sakéhefe I und II besteht nur darin, daß bei Sakéhefe II die gedrungenen Zellen größer als die gleichgeformten von Sakéhefe I sind.

7. Abtötungstemperaturen.

Versuchsanstellung. Der Versuch wurde in der Weise durchgeführt, daß Reagenzgläser mit 15 ccm ungehopfter dunkler Bierwürze von 12 Proz. B. gefüllt und dann $^1/_2$ Stunde im Dampftopf sterilisiert wurden. Sie erhielten einen Zusatz von 2 Tropfen einer kräftigen Bodensatzhefe, die in Würze nach 2 Tagen bei 25° C erhalten worden war. Nach dem Verteilen der Hefe in der Würze wurden die Reagenzgläser im Wasserbad unter wiederholter Bewegung, um einerseits die Mischung möglichst gleichmäßig zu erhalten und die Temperatur im Wasserbad rascher auszugleichen, langsam auf die gewünschte Temperatur gebracht und auf dieser bis zu einer halben Stunde lang gehalten. Hierauf wurde das Wasserbad durch Zugießen von kaltem Wasser abgekühlt; die Reagenzgläser erhielten ihren Platz im Thermostaten bei 20° C.

Ergebnis. Sakéhefe I stirbt in ungehopfter dunkler Bierwürze beim Erhitzen auf 55° C während 15—30 Minuten ab, Sakéhefe II lebte in einer Versuchsreihe unter den gleichen Bedingungen nach 24 Stunden wieder auf, in einer zweiten Versuchsreihe nicht mehr.

Bei 60° C waren beide Hefen schon bei einer Einwirkungsdauer von 15 Minuten abgestorben.

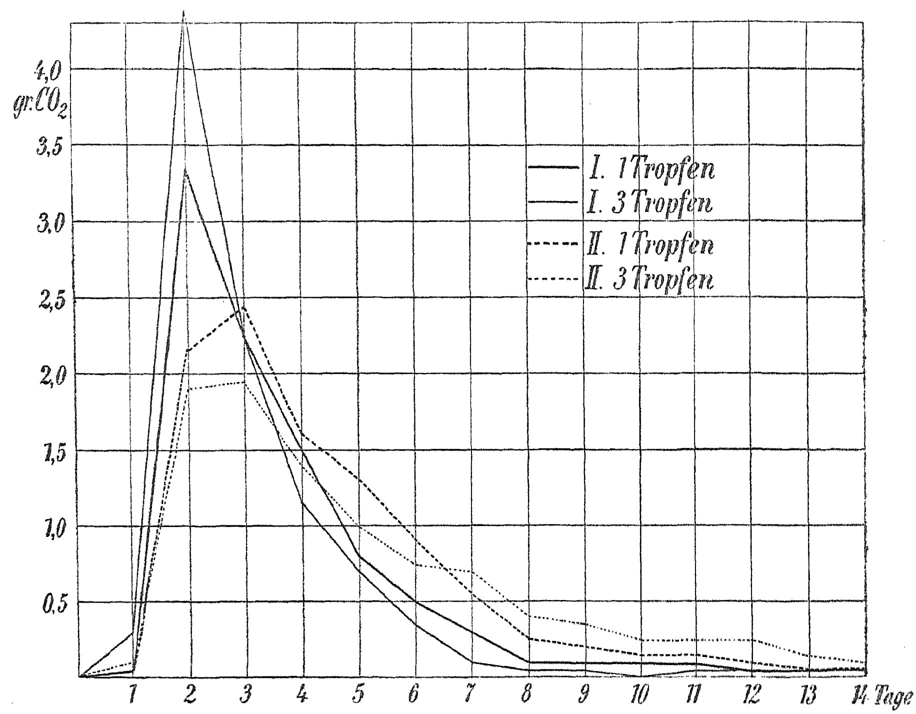
8. Gärverlauf in ungehopfter Würze.

Die Versuchsanstellung war folgende. Ungehopfte dunkle Bierwürze von 12 Proz. B. wurde in Mengen von 300 ccm auf Flaschen von 500 ccm

abgefüllt und im Dampftopf 1/2 Stunde sterilisiert. Nach dem Abkühlen wurde der Watteverschluß durch einen Gärverschluß nach Wortmann ersetzt. Die durch mehrtägiges Stehenlassen gelüftete Würze wurde mit je einem und je 3 Tropfen aus dem Bodensatz einer 2 Tage alten Würzekultur der beiden Hefen beimpft und die Flaschen bei Zimmertemperatur (22—26° C) aufgestellt.

Nach Verlauf von je 24 Stunden stellte man dann während 14 Tagen durch Wägung den Kohlensäureverlust fest. Aufgeschüttelt wurden die Flaschen nicht und auch möglichst vorsichtig auf die Wage gebracht.

Der Gärverlauf ergibt sich aus dem Verlauf der nachstehenden Kurventafel. Er ist bei den beiden Hefen für die verschiedenen Einsaatmengen im allgemeinen der gleiche. Auffällig erscheint, daß sich Sakéhefe II umgekehrt verhält wie Sakéhefe I. Bei dieser steigt bei



Kurve.

Einsaat von 3 Tropfen die Kohlensäuremenge viel rascher, als bei Einsaat von einem Tropfen an und es wurde auch insgesamt mehr Kohlensäure als bei Einsaat von einem Tropfen entwickelt. Bei Sakéhefe II steigt zwar im Anfang die Kohlensäure bei Einsaat von 3 Tropfen rascher an, erreicht aber nicht die Menge, welche bei Einsaat von einem Tropfen erreicht wurde. Worauf diese Anomalie zurückzuführen ist, war zunächst nicht herauszufinden. Das eine ging wieder, wie schon bei dem Versuch in den Standzylindern, aus dem Versuch hervor, daß Sakéhefe I eine größere Gärungsenergie und Gärkraft als Sakéhefe II besitzt. Dementsprechend wurde auch der Alkoholgehalt bei Sakéhefe I mit 3,64 Gew.-Proz. oder 4.58 Vol.-Proz. höher als bei Sakéhefe II mit 3,52 Gew.-Proz. oder 4,43 Vol.-Proz. gefunden.

9. Vergleich zwischen den beiden Hefen I und II und der von Kozai beschriebenen Sakéhefe.

Ein Vergleich der beiden beschriebenen Hefenarten mit der von Yabe[1]) ist bei der Unvollkommenheit der Angaben über die zur Unterscheidung nötigen Merkmale nicht möglich. Dagegen läßt sich die von Kozai aus Sakéhefe gezüchtete Art, die er kurz als Sakéhefe (Saccharomyces Saké Yabe) bezeichnet, mit unseren beiden Hefen in Parallele stellen. Hier wie dort entstehen Riesenzellen. In der Hauptsache stimmt auch das Verhalten in der Tröpfchenkultur überein. Die Riesenkolonie der Sakéhefe von Kozai scheint jedoch von derjenigen unserer beiden Hefen verschieden zu sein. Kozai gibt an, daß von der Mitte der Riesenkolonieen auf Würzegelatine strahlige Ausläufer ausgehen, die ihrerseits Verzweigungen aufweisen. Die unterste Schicht der Kolonieen frißt in die Gelatine nicht ein. Das würde also bedeuten, daß Anhänge auf der Unterseite der Riesenkolonieen, wie bei unseren zwei Arten, nicht vorhanden sind. Damit würde aber die Hefe von Kozai, wenn seine Ausdrucksweise von uns richtig gedeutet wird, völlig von den beiden beschriebenen Arten verschieden sein. Ausgeschlossen ist allerdings nicht, daß die Riesenkolonie von Kozai, wie dies bei Riesenkolonieen öfters vorkommt, nicht normal entwickelt war, und daß sie dem gleichen Typus, wie derjenige unserer Sakéhefe I, angehört.

Die Optimaltemperatur für die Sporenbildung liegt bei der Hefe von Kozai bei 30—31° C; die ersten Sporenlagen erscheinen nach 14 Stunden. Bei unseren beiden Hefen, die allerdings nicht in Bierwürze allein, sondern in Bierwürze mit einem Dextrosezusatz vorbereitet worden waren, liegt die Optimaltemperatur bei 31° C; die entsprechenden Zeiten sind für Sakéhefe I 16 Stunden, für Sakéhefe II 14 Stunden. Das Optimum stimmt also bei Hefe II mit demjenigen der Hefe von Kozai überein, die Maximaltemperatur für die Sporenbildung liegt jedoch bei dieser bei 40—41° C; die Sporenanlagen erscheinen nach 36 Stunden, während die Maximaltemperatur bei unseren beiden Hefen schon bei 35° C liegt. Für die Hefe von Kozai liegt die Minimaltemperatur bei 3—4° C; Sporenbildung tritt nach 15 Tagen ein. Für unsere Hefe I liegt jene wahrscheinlich nahe bei 10° C, bei Hefe II noch höher.

Ueber die Hautbildung seiner Sakéhefe finden sich bei Kozai keine Angaben.

Das Verhalten gegen verschiedene Zuckerarten stimmt darin überein, daß alle 3 Hefen Dextrose, Saccharose, Galaktose und Maltose vergären, Laktose und Melibiose aber nicht.

Die Abtötungstemperatur unserer beiden Hefen liegt unter den gleichen Bedingungen, wie bei den Versuchen von Kozai bei 60° C, sie stimmt also mit derjenigen für die Hefe von Kozai überein.

Aus dem Vergleich ergibt sich, daß die drei Hefen voneinander verschieden sind.

Nebenbei sei noch bemerkt, daß die beiden neuen Hefenarten 10 ccm ungehopfte 10-proz. Würzegelatine bei Zimmertemperatur innerhalb 8 Wochen, bei gleichmäßiger Verteilung der Hefe in der Gelatine, völlig verflüssigt hatten.

Der Hefe I habe ich den Namen **Saccharomyces Tokyo** und der Hefe II den Namen **Saccharomyces Yedo** gegeben.

Die Hauptmerkmale der beiden Saccharomyceten sind kurz folgende:

1) Imp. Univ. Coll. of Agric. Tokyo Bull. 1897. Vol. III. p. 221.

Saccharomyces Tokyo Nakazawa. Kugelförmige Zellen 1,2 bis 3,2 μ, ellipsoidische und gestreckt-ellipsoidische 3,0—14,0 : 2,0—9,0 μ. Riesenzellen, häufig ovoidische und birnförmige Zellen. Plasma ohne oder nur mit sehr wenigen Granulationen. In neutralem Hefewasser mit 5 Proz. Saccharose Bodensatz und Nährflüssigkeit rotgelb gefärbt. Wachstum in Einzellkulturen nach Typus III—II; die Unregelmäßigkeiten gleichen sich soweit aus, daß fast Typus I erreicht wird. Riesenkolonieen auf Würzegelatine mit schmalen, deutlich abgesetzten Strömen, auf der Oberfläche konzentrisch gestreift. Kräftige Anhänge auf der Unterseite. Sporen vom Aussehen wie bei wilder Hefe, bis zu 4. Sporenbildung: Maximum 35° C = 21 Stunden, Optimum 31° C = 16 Stunden, Minimum um 10° C. Untergärig, rasch angärend. Vergärt Dextrose, Saccharose, Galaktose, Maltose; Raffinose wird gespalten, die Melibiose aber nicht vergoren, ebensowenig Laktose. Hautbildung schwierig, die lange Zeit scharfbegrenzten Hautinselchen verschmelzen schwer, sinken zu Boden. Haut trocken, gelblichbraun. Randpartie der Hefeninselchen stromartig, zentrale Partie eben und hoch erhoben.

Saccharomyces Yedo Nakazawa. Kugelförmige Zellen 3,2 bis 6,4 μ; ellipsoidische, gestreckt-ellipsoidische, wurstförmige 4,5 bis 20,8 : 3,2—7,2. Riesenzellen, häufig ovoidische und birnförmige Zellen. Plasma homogen, ohne oder nur mit sehr wenigen Granulationen. In neutralem Hefewasser mit 5 Proz. Saccharose Bodensatz und Nährflüssigkeit rotgelb gefärbt. Wachstum in Einzellkolonieen nach Typus III. Riesenkolonie auf Würzegelatine kaum mit Andeutung von Strombildung, ohne konzentrische Streifung. Kräftige Anhänge auf der Unterseite. Sporen vom Aussehen wie bei wilder Hefe, bis zu 4. Sporenbildung: Maximum 35° C = 18 Stunden, Optimum 31° C = 14 Stunden, Minimum zwischen 14 und 10° C. Untergärig, langsam angärend. Vergärt Dextrose, Saccharose, Galaktose, Maltose; Raffinose wird gespalten, die Melibiose aber ebensowenig wie Laktose vergoren. Hautbildung: kräftig, schleimig-glänzend, gelblichweiß, Randpartie der Hefeinselchen stromartig, zentrale Partie napfartig vertieft.

München, 1. Sept. 1908.

Einiges zur Kritik von F. G. Kohls Buch: Die Hefepilze.

Von **Hugo Fischer**.

Im voraus sei betont, daß ich das genannte Buch im ganzen für recht gut, brauchbar und verdienstvoll halte, und daß, wenn ich hier es unternehme, daran Ausstellungen zu machen, diese sich auf einzelne Punkte beziehen, allerdings auf keineswegs unwesentliche Punkte.

So ist mir die etwas krause Disposition aufgefallen. Selbst die drei Hauptteile, ein morphologischer, ein physiologischer, ein systematischer, sind (wenigstens die beiden ersteren) allzuwenig auseinander gehalten. Die Morphologie der Sporenbildung z. B. wird im physiologischen Teil abgehandelt, zwischen den Kapiteln „Methodisches, Kultur der Hefe etc.“ und „Vermehrung der Hefe und die Einflüsse auf dieselbe“. Dadurch wird die der Sporulation vorausgehende Kernteilung weit getrennt abgehandelt von der ganz homologen Kernteilung bei der Sprossung. Das wirkt um so störender, als den sonst guten Tafeln eine besondere Figurenerklärung fehlt, so daß man die Bedeutung einer jeden Abbildung müh-

sam im Text aufsuchen muß. Bereits in der sonst recht kurz gehaltenen Einleitung werden so spezielle Dinge beschrieben, wie Dauer- und Riesenzellen. — Unmittelbar vor dem systematischen Teil, nach Mitteilungen über medizinische und ernährungstechnische Verwendung der Hefe, findet sich ein kurzes Kapitel: „Energieumsatz bei der Gärung", das natürlich an eine ganz andere Stelle gehört. — Die „Atmung der Hefe", die doch naturgemäß in nächster Beziehung zur Gärung steht, ist von dieser durch mehrere Kapitel ganz anderen Inhaltes getrennt. — Die interessante Grüsssche Gärungstheorie wird in dem Abschnitt über Glykogen (!) besprochen; in dem weit davon entfernten Kapitel „Gärungstheorieen" geschieht ihrer überhaupt keine Erwähnung, nicht einmal in einer Anmerkung. — Dafür findet sich in dem letztgenannten Kapitel eine längere Beschreibung der Methode, mittels deren der Buchnersche Hefepreßsaft gewonnen wird, diese Methode und die eingehende Beschreibung des Preßsaftes hat aber wohl mit einer Theorie der Gärung nichts gemeinsam? Es ist sicher nicht leicht, ein in sich selbst so vielerlei wechselseitige Beziehungen aufweisendes Thema, wie die Lehre von den Hefepilzen, in absolut einwandsfreier Disposition und zugleich ohne Wiederholungen zur Darstellung zu bringen; diese Art aber, zusammengehörige Dinge auseinanderzureißen, muß auf den Leser verwirrend wirken, ganz besonders auf den, der lernen will.

In dem Abschnitt „Gärungstheorieen" stellt der Verfasser folgende als „auf biochemischer Grundlage entwickelte" zusammen:

a) Sauerstoffentziehungstheorie Pasteurs,
b) Molekular-physikalische Theorie Nägelis,
c) Stoffwechseltheorie,
d) Traubes Enzymtheorie,
e) Biologische Theorie.

Von diesen brauchen wir uns bei der zweiten nicht länger aufzuhalten; es bezweifelt heute wohl niemand mehr, daß die Vergärung von Dextrose u. a. nicht auf einem Auseinanderfallen infolge von Schwingungen beruht, und daß sie nicht außerhalb der Hefezellen vor sich gehe.

Die „Stoffwechseltheorie", die der Verfasser sehr kurz behandelt, steht in recht enger Beziehung zu den von Pasteur vertretenen Anschauungen. Wenn zu den letzteren Kohl bemerkt: „Nun finden bei der anaëroben Buttersäuregärung tatsächlich starke Reduktionen statt, es entsteht sogar nachweislich freier Wasserstoff, allein wir wissen nicht, ob derselbe tatsächlich dadurch frei wird, daß die Gärungsorganismen den Molekülen Sauerstoff entreißen. Derartige Bedenken, aber in erster Linie die Tatsache, daß die Alkoholgärung, wie wir sehen, nicht an das Fehlen von Sauerstoff gebunden ist, mußten der Pasteurschen Theorie und der Auffassung der Gärung als einer intramolekularen Atmung den Boden entziehen" — so ist dagegen doch mancher Einwand zu erheben. Zunächst ist sicher, daß der Satz Pasteurs: „Fermentation, c'est vivre sans air" für die anaërobe Buttersäuregärung ohne Einschränkung gilt. Der betreffende Gärungsvorgang ist für seine Erreger die einzige in Betracht kommende Quelle vitaler Energie, deren Entziehung jede Lebenstätigkeit unmöglich macht. Die Buttersäuregärung, wie jede echte Gärung, von exothermalem Charakter, besteht, wie jede echte Gärung in einer teilweisen Oxydation (Kohlendioxyd), teilweisen Reduktion (Buttersäure, freier Wasserstoff) des Ausgangsmaterials, das im unzersetzten Zustand Kohlenstoff- und Sauerstoffatome in gleich-

mäßiger Verteilung zeigt, nach der Vergärung nicht mehr (wie das in ganz ähnlicher Weise Hoppe-Seyler in Pflügers Archiv, Bd. XII, 1875 für die Alkoholgärung darlegt).

Das gleiche gilt nun naturgemäß auch für die intramolekulare Atmung, soll aber nach Kohl nicht für die alkoholische Gärung der Hefepilze gelten, für welche er (neben der gar nicht hierher gehörigen Enzymtheorie; vergl. unten) nur die „biologische Theorie“ gelten läßt. Stellen wir uns die Frage, wie die Alkoholproduktion der Hefepilze zu erklären sei, so ist es meiner Meinung nach die einzige, naturwissenschaftlichem Denken entsprechende Methode, das Unbekannte an Bekanntes, den Spezialfall an das Allgemeine anzuknüpfen, bezw. ihm unterzuordnen. Nun finden wir die Alkoholbildung als „intramolekulare Atmung“ weit verbreitet im Tier- wie im Pflanzenreich, wir sehen unter den Sproßpilzen selbst alle Uebergänge von einer minimalen bis zu einer enorm hohen Produktion — was kann da wohl näher liegen, als die Gärung der Hefepilze als einen Spezialfall der intramolekularen Atmung aufzufassen, der sich zu einer intensiven und auch bei Luftzutritt ungeschwächt fortdauernden Gärtätigkeit steigern, hinaufzüchten konnte, weil der Alkohol sich als kräftiges Schutz- und Trutzmittel im Wettbewerb der Arten herausstellte. Denn — ein Einwand, der mutatis mutandis oft und meist auch mit Recht in Fragen der „Natürlichen Abstammungslehre“ erhoben worden ist: erst mußte eine giftige Substanz da sein, und zwar in nicht zu geringen Mengen, ehe sie irgendwelche Schutz- oder Trutzwirkung ausüben konnte. Wie anders aber konnte Alkohol entstehen, denn als Abfallsprodukt des Stoffwechsels? Und wo kennen wir eine zum Vergleich irgend in Frage kommende Alkoholerzeugung in lebenden Zellen, als auf dem Wege intramolekularer Atmung? Schreibt doch Kohl selbst, wenige Seiten nach den zitierten Sätzen (S. 145): „Die wilden Stammeltern unserer Kulturhefen haben normal geatmet und nur bei Luftzutritt sich optimal vermehrt, genau wie es die Nachkommen noch heute tun. In der Natur aber, in faulenden Früchten, im Schleimflusse der Bäume usw. lebt die Hefe unter Bedingungen, die sie nur bei stark verminderter Luftversorgung ausnutzen kann, und der geführte Kampf wird zum Kampf um die Erhaltung der Art.“ Es sind also alle Vorbedingungen erfüllt, um die normale Atmung durch die intramolekulare zu ersetzen! Auch in den Gärbottichen ist der Luftzutritt selbstredend sehr weitgehend eingeschränkt, und wenn auch die Vergärung einer gegebenen Zuckermenge, wie auch Kohl betont, ein viel geringeres Quantum an Energie liefert als die Veratmung, die vollständige Verbrennung der gleichen Menge, so ist eben die Hefe hier in derjenigen Notlage, in der wenig besser ist als gar nichts. Es stehen also der Auffassung der Alkoholgärung als eines Spezialfalles der intramolekularen Atmung nicht die mindesten Bedenken entgegen, auch wenn wir uns voll und ganz der biologischen Gärungstheorie anschließen. Die anfangs geringe Fähigkeit, durch intramolekulare Atmung Alkohol zu bilden, ist teils durch den Kampf ums Dasein, teils durch künstliche Auslese seitens des Menschen zu der bekannten Höhe hinaufgezüchtet worden — diese Vereinigung der Pasteurschen und der biologischen zu einer Gärungstheorie ist wohl diejenige Erklärung des Phänomens, die sowohl unserer derzeitigen Erkenntnis als auch dem wissenschaftlichen Denken am nächsten liegt, mit keiner bekannten Tatsache aber sich im Widerspruch befindet. Auf den nur scheinbaren Widerspruch, der in der ausgiebigen Gärung auch bei Luftzutritt gefunden werden könnte, kommen wir noch zurück.

Recht eigentümlich nimmt sich bei Kohl die Stellung der Enzymtheorie zwischen den anderen aus, mit denen sie recht wenig, bei Kohl gar nichts zu tun hat. Sie ist eigentlich gar keine Theorie, vielmehr war es bis auf Eduard Buchner eine durch nichts bewiesene Vermutung, seit der Zymaseentdeckung ist es eine experimentell sichergestellte Tatsache, daß ein von der Zelle trennbares Agens, ein Enzym, die Gärung bewirkt. Was ist oder war daran jemals „Theorie"?

Und doch bestehen an zwei Punkten Beziehungen zwischen der Enzymtatsache und der Theorie der Gärung. Die eine ist die: Die Enzymproduktion ist keineswegs, wie man behauptet hat, einer zweckmäßigen Selbstregulation unterworfen; es ist nachgewiesen, daß die Entstehung und der Wirkungsgrad von Enzymen durch äußere Einflüsse vermindert oder gesteigert werden kann, was manchmal wohl auch „zweckmäßig" sein mag; es ist aber auch bekannt, daß glykosidspaltende Enzyme so lange gebildet werden, bis ein aus dem dargebotenen Glykosid abgespaltenes Gift den Erzeuger tötet! es ist ferner bekannt, daß Invertase und ähnliche Enzyme auch dann ausgeschieden werden, wenn man Hefe oder andere Pilze auf Dextroselösung kultiviert, wo es nichts zu invertieren gibt! — warum soll also nicht auch die Tatsache, daß Hefe bei Luftzutritt gerade so gut wie bei Luftabschluß gärt — eine Tatsache, die auch von anderen als von Kohl schon gegen die Auffassung der Gärung als intramolekularer Atmung ins Feld geführt worden ist — warum soll diese sich nicht eben auf Grund der Enzymwirkung, durch unvollkommene Regulierung der Enzymbildung, natürlich und ungezwungen erklären lassen? unbeschadet der zu Recht bestehenden biologischen Gärungstheorie. Damit wäre dann von der physiologisch-biologischen Seite der Ring geschlossen: Die Hefe, durch Mitbewerber in der Luftversorgung eingeschränkt, atmet intramolekular; sie tut dies mittels eines Enzymes; das Enzym entsteht und wirkt auch bei Luftzutritt, wo es gar nicht nötig wäre; der erzeugte Alkohol aber erweist sich als nützlich im Wettbewerb; so wird die Fähigkeit zur Alkoholase- und zur Alkoholbildung, und zugleich die Fähigkeit, Alkohol in höheren Konzentrationen zu ertragen, allmählich gesteigert, bis einige Hefepilze in dieser Eigenschaft alle anderen Organismen weit überragen — das wäre dann nicht eine, sondern die Theorie der Gärung.

Freilich noch keine fertige und vollständige, denn sie sagt uns noch nichts über den Chemismus der Gärung. In dieser Richtung liegt die zweite Beziehung zwischer Enzymtatsache und Gärungstheorie. Die Enzymforschung ist in verschiedenerlei Hinsicht von hohem Interesse, namentlich auch darum, weil mittels des tunlichst gereinigten Enzymes ein biochemischer Vorgang viel reiner studiert werden kann, als mittels der lebenden Zelle. In dieser Richtung haben sich ja auch die Enzyme im allgemeinen und die Alkoholase im besonderen bereits verschiedentlich bestens bewährt. Doch dies nur nebenbei.

Recht einseitig ist die Art, wie Kohl bei Gelegenheit der „Enzymtheorie" die Anschauungen Liebigs zitiert: „Die Buchnersche Entdeckung ist die genaue Bestätigung der Auffassung, welche Justus von Liebig 1868, seinen letzten Standpunkt zur Pasteurschen Gärungstheorie kennzeichnend, in folgende Worte zusammenfaßte: „„Es könnte sein, daß der physiologische Prozeß in keiner anderen Beziehung zu dem Gärungsprozeß steht, als daß durch ihn in der lebenden Zelle der Stoff erzeugt wird, welcher durch eine ihm eigene Wirkung, ähnlich

der des Emulsins auf Salicin und Amygdalin, das Zerfallen des Zuckers und anderer organischer Atome herbeiführt; der physiologische Prozeß würde in diesem Falle nötig sein, um diesen Stoff zu erzeugen, aber mit der Gärung an sich würde er in keiner weiteren Verbindung stehen.““ Hier prophezeit Liebig in klaren, nackten Worten die zellfreie Gärung, durch Buchners Preßsaft wurde diese Prophezeiung erfüllt.“

Diese Prophezeiung, das einzige, was Kohl von Liebigs auf die Gärungsfrage bezüglichen Aeußerungen erwähnt, war aber in Wahrheit doch nichts als eine leere, unbewiesene Vermutung; es hätte ebensogut auch ganz anders sein können. Sie war jedoch das letzte, allerdings vor jeder exakten Widerlegung sichere Bollwerk, in das sich Liebig vor den unerbittlichen Tatsachen hatte zurückziehen müssen. Jahrelang hatte er mit Erbitterung, im Ernst wie im Scherz (vergl. jene köstliche, leider in ihrem Ziel völlig verfehlte Satire in Annalen der Pharmazie Bd. XXIX. 1839, neuerdings abgedruckt in Delbrück u. Schrohe, Hefe, Gärung und Fäulnis, Berlin 1904. p. 40ff.) die Meinung bekämpft, die in der Hefe ein lebendes Wesen und die Ursache der Gärung erblickte. Schritt um Schritt hatte er weichen müssen; nun verschanzte er sich hinter jenen Sätzen, die niemals experimentell widerlegt, vielleicht aber später einmal bestätigt werden konnten. Mußte die Hefe schon widerwillig als Ursache der Gärung anerkannt werden, so sollte sie wenigstens nicht die ganz direkte Ursache sein. Einen positiven Anhalt für jene Vermutung hatte er nicht, denn die von ihm zum Vergleich herangezogene Glykosidspaltung ist etwas ganz anderes, als der Gärungsvorgang — was allerdings zu jener Zeit noch weniger bekannt war, als heutigen Tages! Niemand wird im Ernst anzweifeln wollen, daß Liebig ein ganz hervorragender Forscher war; in bezug auf Hefe und Gärung aber hat er sehr viel Eifer an eine verlorene Sache verschwendet, hat den Gegnern ein Zugeständnis nach dem anderen machen müssen, und, seine Stellung zu diesen Fragen so darzustellen, wie Kohl es tut, als ob er unter allen hier den einzig richtigen Standpunkt verfochten hätte, das entspricht nicht den historischen Tatsachen. Gerade die von Liebig bekämpften Entdeckungen der Biologen sind von allererster Bedeutung für Theorie und Praxis der Gärung geworden.

Als wenig sachgemäß ist mir auf S. 74 die Einteilung der Hefenenzyme aufgefallen. Hier stehen die Enzyme der hydrolytischen Spaltung (Diastasen einschließlich Invertase und ähnliches, Proteasen, Lipasen und Glykosid spaltende Enzyme) als No. 1, 2, 4, 7, dazwischen als 3 die Zymase, als 5 und 6 Oxydasen und Hydrogenasen. Eine wissenschaftlich korrekte Einteilung würde alle hydrolytischen Enzyme (Schizasen, wie ich sie seinerzeit benannt habe) zusammenstellen, die Zymase aber als halb oxydierend, halb reduzierend, zwischen Oxydasen und Reduktasen unterbringen. Nach welchen leitenden Gesichtspunkten jene Anordnung gewählt wurde, bleibt dem Leser unklar.

Auf p. 119 heißt es: „Der ausgepreßte Saft läßt sich ohne Beeinträchtigung seiner Gärkraft durch Chamberland-Kerzen filtrieren, mit Toluol, Chloroform usw. versetzen, im Vakuum trocknen, mit Alkoholäther fällen, wobei die Zymase als weißer Niederschlag erhalten wird, Erwärmen zerstört das Enzym. Die Zymase ist hiernach eine chemische Substanz, sie als lebende Substanz anzusehen, sind wir nicht berechtigt.“ Hier folgt eine Verweisung auf jene Stelle im Centralbl. f. Bakt., Bd. IX. 1902, wo ich auf p. 354 den ominösen Satz geschrieben habe: „Denn erstens ist auch das Enzym etwas Lebendes usw.“ Aus dem Zusammen-

hang gerissen, kann er allerdings so aufgefaßt werden, als ob ich zwischen Enzym und Protoplasma gar keinen Unterschied gelten lassen wollte. Schade, daß man dem Wörtchen „auch" in Schrift und Druck nicht die gleiche Betonung beilegen kann, die ich ihm vorliegenden Falles im mündlichen Vortrag gegeben haben würde. Den alten Streit, wie weit die Berechtigung jenes Satzes reiche, will ich hier nicht noch einmal aufrollen. Daß es gemeinsame Eigenschaften gibt, welche die Enzyme überhaupt und die Alkoholase insbesondere mit den Bestandteilen des lebenden Protoplasmas verbinden, das lehrt uns — wer? — F. G. Kohl in den oben wiedergegebenen Sätzen:

Organismen, die sich durch Chamberland-Kerzen filtrieren lassen, sind allerdings anscheinend nicht bekannt; wenn aber Myxomyceten-Plasmodien z. B. sich zu dieser Prozedur nicht eignen, so liegt das jedenfalls nur an ihrer Zähflüssigkeit; das Merkmal ist also relativ. Die Poren der Zellwand, welche von den weitverbreiteten Plasmodesmen durchsetzt werden, dürften vielfach feiner als die Poren der Chamberland-Kerzen sein. Das lebhaft strömende Protoplasma einer Vallisneria- od. dgl. Zelle macht den Eindruck einer recht leicht beweglichen Flüssigkeit, deren Filtrierung durch Porzellan und ähnliches vielleicht nur an der Unmöglichkeit scheitert, das Protoplasma aus den Zellen herauszuholen, ohne es zu töten. — Gegen Toluol und Chloroform sind manche Bakterien merkwürdig unempfindlich; diese Eigenschaft ist also auch relativ. — Im Vakuum trocknen kann man unbeschadet ihrer Lebensfähigkeit Sporen von Bakterien, Pilzen und vielleicht von Algen, sicher die von Moosen und Farnpflanzen, Sklerotien von Pilzen, ferner wohl alle Samen der Phanerogamen, manche nicht sporenbildende Bakterien, sowie zahlreiche niedere Tiere im Zustand der Einkapselung. Dieses Merkmal ist also überhaupt kein Merkmal. Gegen Alkohol und Aether ist das lebende Plasma weit empfindlicher als die Alkoholase, abgesehen von Bakterien- unter anderen Sporen; doch auch die Behandlung des Preßsaftes mit Aetheralkohol muß bekanntermaßen äußerst rasch ausgeführt werden, sonst leidet das Enzym ebenfalls; also auch das ist relativ. — Und der letzte jener Sätze, aus dem sich die für mich vernichtende Schlußfolgerung ergibt — „Erwärmen zerstört das Enzym" —? Ja, wird denn lebendes Plasma durch Erwärmen nicht auch zerstört? In diesem Punkte besteht also überhaupt kein Unterschied, die Zymase ist sogar gegen Hitze weit weniger widerstandsfähig, als jene erst nach 1- bis 6-stündigem Kochen getöteten Sporen gewisser Bodenbakterien. Ist somit die Eigenschaft, durch Kochen zerstört zu werden, als Kriterium für eine bloß chemische, nicht lebende Substanz zu gebrauchen? Dann wäre also Cellulose keine chemische Substanz, Chlornatrium ebensowenig, usw. usw. Darum scheint mir eines gewiß: Wenn Kohl meine Anschauungen[1]) bekämpfen oder widerlegen wollte, dann hat er das so unzweckmäßig wie nur möglich angefangen. Die auch von mir niemals geleugneten oder auch nur unterschätzten Unterschiede zwischen Enzym und Protoplasma sind gerade in jenen Sätzen nicht betont. — Dabei ist höchst bemerkenswert, daß Kohl auf p. 60 ohne jeden Widerspruch, ohne Zeichen der Mißbilligung den folgenden Satz aus Graham bezüglich der Kolloide anführt: „daß sie, wie G. sagt, der dynamische Zustand der Materie sind,

1) Streng genommen, handelt es sich mehr um eine Ausdrucks- als um eine Anschauungsweise. Auch E. Buchner in seiner „Zymasegärung", München u. Berlin 1903. p. 33, ist der Meinung, daß die Frage im wesentlichen auf einen Wortstreit hinauslaufe.

gegenüber den Krystalloiden, welche den statischen Zustand derselben darstellen, daß sie gewissermaßen Stoffe im lebenden[1]) Zustand und daher eine unentbehrliche Grundlage des Lebens sind". Dieser Ausspruch, sollte man meinen, geht über meine bezüglichen Ausführungen noch weit hinaus; hier wäre nicht nur das aktive, sondern auch das „zerstörte" Enzym, und vieles andere gewissermaßen lebend, was ich niemals gewagt habe, so zu bezeichnen.

Bei dieser Gelegenheit fällt es wieder einmal ins Auge, wie sehr es unserer Sprache an einem zugleich kurzen und bezeichnenden Ausdruck fehlt für das, was Kohl als „zerstören" bezeichnet, und was ich hier zunächst, um jede Mißdeutung auszuschließen, als (sc. ein Enzym) dauernd unwirksam machen bezeichnen will. Nur „unwirksam" oder „inaktiv machen" besagt nicht genug, weil es auch den (der Narkose vergleichbaren) vorübergehenden Zustand der Unwirksamkeit ausdrücken kann. Bei „zerstören" denken wir unwillkürlich an ein Zerreißen, Zertrümmern, an die Auflösung eines molekularen Gefüges, wie sie z. B. an Eiweißkörpern ausgeübt wird durch Erwärmen in Säuren oder Alkalien, oder durch Einwirkung proteolytischer Enzyme. Also ist „zerstören" auch nicht der richtige Ausdruck, so wenig wie „vernichten", denn die Substanz ist ja noch da, sie hat sogar festere Form als vorher angenommen, nur dabei ihre für uns interessanteste Eigenschaft, eben die der Enzymwirkung, eingebüßt. Von „zerstören" oder „vernichten" könnte man also nur dann sprechen, wenn das Enzym wirklich zertrümmert, in seine Bestandteile aufgelöst würde, wie z. B. vermutlich die Alkoholase durch die proteolytischen Enzyme des Hefepreßsaftes aufgelöst, verdaut wird. Da auf das knappe, prägnante und eigentlich kaum mißzudeutende Wort „töten" der große Bann steht, so dürfte uns nur übrig bleiben, die beiden Worte, die für analoge Vorgänge längst in die Eiweißchemie[2]) eingeführt sind: „koagulieren" und „denaturieren", auch für die zu den Eiweißkörpern ja so vielerlei Beziehungen aufweisenden Enzyme anzuwenden; die beiden Tatsachen, daß der entsprechend behandelte Körper wesentliche Eigenschaften einbüßt, und daß diese Einbuße nicht rückgängig gemacht werden kann, sind nach dem eingebürgerten Brauch mit jenen Worten begrifflich verbunden, es dürfte also ihrer Einführung auch in die Terminologie der Enzymenlehre kaum ein wesentliches Bedenken entgegenstehen. Wir würden also die Veränderung, welche Enzyme durch Siedetemperatur und durch Behandlung mit ausfällenden Giften[3]), also mit Salzen der Schwermetalle, Formaldehyd u. a. erleiden, als „Koagulation" oder „Denaturierung" bezeichnen, mit „Ausfällung", wie üblich, die Gewinnung eines Enzymes als Niederschlag, ohne Verlust der Aktivität, mit „Zerstörung" aber nur die Zerreißung des Atomkomplexes, die selbstredend auch die Enzymwirkung endgültig aufhebt. Denn zerstört wird ein der Siedetemperatur ausgesetztes Enzym wohl auch nicht mehr als etwa ein Hühnerei beim Kochen oder eine Kernfigur bei der Fixierung; für die Alkoholase insbesondere ist die Hitzewirkung wohl gleichbedeutend mit Koagulation.

Nicht verschweigen will ich jedoch, daß die vorgeschlagenen Termini „koagulieren" und „denaturieren" in meinen obigen Ausführungen in etwas anderer Richtung angewandt sind, als bei Cohnheim a. a. O.;

---

1) Sperrdruck a. a. O.

2) Vergl. O. Cohnheim, Chemie der Eiweißkörper. 2. Aufl. Braunschweig 1904. S. 130ff.

3) Auch „vergiften" ist leider gänzlich verpönt!

dort wird die Wirkung der Schwermetallsalze etc. getrennt von der Koagulation behandelt und als „Ausfällung" bezeichnet; letzteren Ausdruck brauchen wir aber (vergl. oben) für die Ausfällung des noch aktionsfähigen Enzymes, während es für die Aufhebung der Enzymwirkung auf eins herauskommen dürfte, ob sie durch hohe Temperatur oder durch chemische Agentien, Gifte, bewirkt wird.

Von dieser Abschweifung zu unserem Buche zurückkehrend, sei schließlich noch der auf p. 121/122 wiedergegebenen Tabelle gedacht, welche 28 verschiedene Saccharomyces- etc.- Arten aufzählt mit ihrem Verhalten gegen ein Monosaccharid (Dextrose) und drei Disaccharide (Saccharose, Maltose, Laktose). Dazu heißt es: „In dieser Tabelle bedeutet das +, daß die Hefe den betreffenden Zucker vergärt, —, daß sie ihn nicht angreift." Mir scheint, die logischen Gegensätze sind: vergären und nicht vergären, angreifen und nicht angreifen. Ein Organismus kann sehr wohl Dextrose oder Saccharose „angreifen", ohne sie zu „vergären", er kann den Zucker als Atem- und Baumaterial verwerten, ohne daß die Kennzeichen einer Gärung vorhanden sind. Pichia membranaefaciens Hansen ist z. B. in allen vier Reihen mit — bezeichnet; da sie auf Dextroselösungen wächst, muß sie wohl fähig sein, Dextrose anzugreifen, was aber nicht dasselbe ist wie vergären. Es liegt ein Widerspruch darin, daß auf p. 122 die genannte Art Dextrose nicht angreift, während sie auf p. 281 aus Dextrose verschiedene Säuren bildet. Darum bleibt der Leser auch im unklaren, ob die genannte Art Saccharose, Maltose und Laktose überhaupt nicht anzugreifen, d. h. zu invertieren vermag, oder aber nur nicht unter Anzeichen der Gärung, wie denn überhaupt a. a. O. die Worte „spalten" und „vergären" in buntem Durcheinander, als gleichbedeutend, und gleichermaßen für Dextrose und Disaccharide gebraucht werden.

Aesculin bile salt media for water analysis.

By **F. C. Harrison** and **J. van der Leck,**
Bacteriological Laboratories, Macdonald College, P. Q., Canada.

The considerable diversity of "presumptive" tests used in England and America for B. coli and other excretal organisms renders an apology almost necessary when introducing yet another test to the attention of laboratory workers. Such a presumptive test (and by this term we mean a simple test which will indicate in the majority of cases whether a water contains excretal organisms or not) largely used in American laboratories is the production of gas in a fermentation tube containing dextrose broth, with a gas formula of $H : CO_2 = 2 : 1$.

In English laboratories the bile salt broth of McConkey and Hill (1) or the modification of this medium with neutral red as suggested by Grünbaum and Hume (2) is more commonly employed. Phenol broth, lactose litmus agar, and other media have also been used by various workers.

Several investigators (3) have pointed out the limitations of these tests; thus in the case of the fermentation of dextrose, — that the amount of gas, and the percentage of CO_2 are subject to variation, even with

pure cultures of B. coli, and that B. coli is frequently present in fermentation tubes in which the amount of gas was less than 10 % after 48 hours incubation at 37 ° C.

Irons (4) in an investigation comparing the results obtained with the dextrose fermentation tube and with neutral red broth found in 285 determinations 35 per cent of positive results with the neutral red method. Prescott and Winslow (5) in a paper on the relative value of dextrose broth, phenol broth and lactose bile as enrichment media for the isolation of B. coli examined 176 samples of water from various sources. From the date they obtained they considered the bile medium inferior to dextrose broth as an enrichment medium in the process for the complete isolation of B. coli, but as a presumptive test, when the full working out of B. coli was impossible the bile medium offered distinct advantages. Thus they sum up their experimental facts as follows:

„If the proportion of cases in which B. coli was actually isolated (70 out of these 176 samples) be taken as 100, the percentage of complete, positive results, using bile for preliminary enrichment was 91. If the dextrose broth fermentation test alone had been considered positive 120 "presumptive" tests would have been obtained, or 171 per cent of the real number. On the other hand, the positive presumptive tests in bile, considering all gas formation as positive, would have given 78 positive results, or 111 per cent, only slightly in excess of the true value. As a presumptive test, the lacotse-bile medium seems to yield a fair approximation to the truth, being far superior in this respect to dextrose broth."

Savage (6) strongly recommends the use of neutral red bile salt broth, the bile salt checking the growth of organisms other than B. coli, and the reduction changes in the neutral red serving as an indicating agent.

In the examination of water for B. coli none of these "presumptive" tests are reliable in themselves (7), either to indicate that a water is good or bad or that it contains or is free from B. coli. These preliminary tests have a great value in that they indicate the probable numerical presence of B. coli, and so save the labour of plating all the different dilutions made. That is their object, and as such they are of extreme value, but they are not sufficiently reliable to take the place of the isolation and numerical determination of B. coli itself." The American Standard Committee come to similar conclusions.

The experiences of the investigators mentioned above have been fully borne out by our own. During the last few years one of us has had occasion to analyse several hundred samples of water from many sources, the enrichment medium usually employed being dextrose broth in fermentation tubes. Latterly, however, the neutral red bile salt medium has been used with fairly satisfactory results.

Recently, we have had occasion to make a large number of analyses of the Ottawa River water, and as B. coli or its varieties was constantly present in amounts of 5 c. c. or less, it was necessary to find out the exact number of this organism, and for this purpose we employed the neutral-red-bile-salt-lactose agar of Grünbaum und Hume. The counting and isolation of B. coli from this medium gave us fair results, but even with considerable practice, we were at times unable to determine from the appearance of the colony whether it was that of B. coli

or some other organism which produced red colonies with the surrounding medium red; and on this account we determined to use aesculin instead of neutral red.

Aesculin is a glucoside and undergoes a hydrolitic fermentation when B. coli, and some other organisms are grown in a medium containing this sugar (9). The reaction, as nearly as one can express by this means a bacterial reaction is probably as follows:

$$C_{15}H_{16}O_9 + H_2O = C_6H_{12}O_6 + C_9H_6O_4$$

Aesculin + water = Sugar + Aesculetin

The aesculetin then combines with the iron salt (iron citrate) used in the medium to form a dark brown salt.

The reaction only takes place in sugar free media. Colonies of B. coli in media containing aesculin, are black with a black halo around them, and they are thus very easily seen, and can be readily counted against a white background.

It is true that other organisms besides B. coli give the reaction, notably B. lactis aërogenes, lactose fermenting yeasts, and some moulds, but the last two may be disregarded, as they are seldom found in water, and the appearance of the colonies is characteristic. B. lactis aërogenes may be regarded as an excretal form, and hence it is of some benefit to be able to recognise its presence, and with very little practice the appearance of the colonies of this organism on the aesculin medium may be readily noted, as the colonies are usually larger, moister and more raised than those of B. coli. Some forty species or varieties [1]) of bacteria and yeasts have been grown in media containing aesculin with negative results.

The preparation of aesculin media is easy, and different lots are very uniform in composition. Our usual method of preparing is to first weigh out —

1 or 2 per cent	Witte's peptone
.5 „ „	sodium taurocholate (commercial)
.1 „ „	aesculin
.05 „ „	iron citrate
100 c. c.	Tap-water

After steaming from 15 to 30 minutes the medium is filtered and filled into test tubes. For aesculin agar 1,5 per cent of agar is used, and after dissolving the agar in part of the water the remaining ingredients are added, brought to the boil and then filtered, or else the medium is cooled for the addition of white of egg or albumen, again brought to the boil and then filtered and tubed.

The tubes may be either sterilised in the steam steriliser on three successive days, or autoclaved for 15 minutes at 15 lbs. pressure.

We advise using bile salt aesculin broth and aesculin agar for the routine examination of water, as the former acts as an enrichment method, and the latter indicates the number of colonies of B. coli present per c. c. in the small quantities of water used in pouring the plates. The method usually employed is as follows: We add 1 and 5 c. c. of water to two test tubes of aesculin bile salt broth, and place in sterilised Petri dishes one, two, three. or five cubic centimetres of water, respectively,

1) B. fluorescens; B. fluor. liquefaciens; B. prodigiosus; B. lactis viscosus; slimy milk bacteria, 3 species; B. butyricus; B. Zopfii; Proteus vulgaris; B. mesentericus; B. mycoides; 5 species lactic acid bacteria; B. cloacae, one culture from Jordan and one from Johns Hopkins University; etc., etc.

and then pour into each plate melted aesculin bile salt agar, from 8 to 16 c. c., depending on the amount of water used. After using sufficient of the sample for other plates, 10 c. c. of four times strength aesculin bile salt broth is added to the sample bottle, and all tubes, plates, etc., are incubated at 37,5–40° C. For waters in which the colon bacillus is present in quantities of 5 c. c. or less, the aesculin bile salt agar gives very reliable results. If black colonies are present on the plates, they may be subcultured in 24 hours, and even the presence of the black colony, furnishes presumptive evidence, as in the analysis of more than 60 samples of surface waters we have invariably found that the black colony on being subcultured presented all the features of an excretal B. coli or B. lactis aërogenes. When using aesculin bile salt broth, if a positive reaction takes place the medium turns black, and we consider this reaction a better presumptive test for B. coli than the red colonies in neutral red bile salt lactose agar, or gas and acid in dextrose broth, as from the results of 60 tests in which we obtained a black coloration in aesculin bile salt broth, we secured the same number of (60) positive tests of B. coli[1]).

The disadvantages of both the above methods is the comparatively small amount of water that can be used; larger plates and larger tubes allow 10 c. c. samples to be used, but it is more satisfactory to use the remainder of the water in the sample bottle. Our sample bottles are glass stoppered, hold about 110—120 c. c. of water, after taking out as much water as is necessary for plates and tubes, 5 to 10 c. c. of four times strength aesculin bile salt broth is poured in, the stopper replaced, and the bottle incubated at 37—40° C for 24 hours. If the contents of the bottle turn black we have found that B. coli is invariably present, for in the large number of tests by plating from the discoloured samples and subculturing, which we have made, we have always succeeded in isolating a typical B. coli.

Following the method we have employed we obtain from aesculin agar the number of B. coli in 5 c. c. of the sample of water, and from our aesculin broth tubes, indication of the presence of B. coli in 2, 3 and 5 c. c., respectively, end should B. coli be absent from all of these, we may safely assume that it is absent from 16 c. c. of the sample water. Our enrichment medium in the sample bottle will inform us if B. coli is present or absent in 100 c. c. Absence of black colonies on the plates, and no black discoloration in the tubes, but blackening in the sample bottle, will give us the information that B. coli is absent in 16 c. c., but present in 100 c c. These amounts may be easily varied to suit other requirements.

In conclusion, we may again assert that in the analysis of 60 samples of water we have found the aesculin bile salt test has been correct in 100 per cent of our samples, or in other words, all samples which give a positive reaction — as indicated by a black colour in aesculin bile salt broth — contain "excretal B. coli", adopting the definition of Savage (6) or are "flaginac", using the basis of classification suggested by Houston.

---

1) By positive test we mean that the organism is motile and resembles B. coli in size, typical appearance on gelatine slope, no liquefaction of gelatine, acid production and coagulation in litmus milk, and permanency of this acid. Production of acid and gas in dextrose and lactose media. Canary yellow fluorescence in neutral red media. Production of Indol in 5 days in peptone water.

We have recently found out that the bile salt restrains the growth of some varieties of the Coli group. These varieties do not show any well-marked deviation from the ordinary morphological or cultural characters of B. coli, but they are influenced to a certain degree by the presence of the bile salt in the medium, and do not grow quickly or fully when this salt is present in the quantity suggested by McConkey. On this account, we have recently started a number of experiments, comparing aesculin without bile salt, with aesculin with bile salt. Whilst the number of these experiments may not be sufficient to enable us to definitely decide which is the better method, yet the results seem to shew that bile salt is not absolutely necessary, and that aesculin bile broth is inferior to the aesculin broth as an enrichment medium for B. coli, but in all cases, the black discoloration of the aesculin method has been caused by typical B. coli.

References.

1) McConkey, A. and Hill, C. A., Thompson-Yates Laboratories Reports. Vol. IV. Part I. p. 151.
2) Grünbaum, A. S. and Hume, E. H., British Medical Journal. 1902. p. 1473.
3) Winslow, C. E. A. and Hunnewell, Journal of Medical Research. Vol. VIII. 1902. p. 502.
Whipple, G. C., Technology Quarterly. Vol. XVI. 1903. p. 18.
Fuller, T. W. and Ferguson, C. E., Journal of infectious Diseases. Supplement. No. 1. 1905. p. 142.
4) Irons, E. E., Journal of Hygiene. Vol. II. p. 314.
5) Prescott, S. C. and Winslow, C.-E. A., American Journal of Public Hygiene. Vol. XVIII. 1908. p. 19.
6) Savage, W. G., The bacteriological examination of water supplies. London 1906.
7) Ibid., p. 232.
8) Houston, A. C., Report on the metropolitan water board for November and December. 1905.
9) Meulen, H. ter., Koninklijke Akademie van Wetenschappen te Amsterdam. Proceedings of the Meeting of Friday, May 24, 1907.

Aesculin bile salt media for milk analysis.

By **F. C. Harrison** and **J. van der Leck,**
Bacteriological Laboratories, Macdonald College, P. Q., Canada.

The routine bacteriological examination of milk in health laboratories usually consists of plating samples in beef peptone gelatine and beef peptone agar, at 20° C. and 37° C., respectively. The plates are counted and the total number of bacteria computed per cubic centimetre of the sample. The species of bacteria present are seldom noted, owing to the large amount of work involved in sub-culturing the various colonies.

The total number of bacteria found in any given sample of milk may or may not give indications of dirty cows and unsanitary utensils and stables, for the milk may have come from clean animals and sanitary stables, but may have been kept in a warm place which would give a high count. Hence the advisability of introducing a simple method of analysis, whereby the bacteria associated with dirt, manure, etc. may be easily and accurately estimated. Such a method is furnished by the use of aesculin bile salt agar which will permit of an accurate determination of the number of B. coli and B. aërogenes present, and thus give

information regarding the amount of filth and particularly manure in the sample. One of us in a previous investigation (1) has shewn that B. aërogenes is as frequently present in cow manure as B. coli, and also that both organisms are present in large numbers on the bodies of various species of flies.

We have already pointed out in the paper "Aesculin bile salt media for water analysis" that aesculin in the presence of iron gives black colonies with B. coli and B. aërogenes, and that both organisms may be counted separately on the plates, on account of the different characters of their colonies.

For routine examination of samples of milk we have usually employed dilutions of 1 in 100 and 1 in 500. For poor milk, however, a higher dilution may be necessary. The diluted milk and the aesculin bile salt agar are mixed together in the plate, and after these have thoroughly set, they are placed in the incubator at 37° C. Counts are made at the end of 24 hours. The black colonies may be readily counted with a white background and the number of B. coli and B. aërogenes computed, per c. c. More striking results may be obtained by leaving the plates somewhat longer in the incubator, particularly if one wishes to separate B. coli from B. lactis aërogenes. We have used this method for some 30 samples of milk, with encouraging results. It has always been quite easy to distinguish the coli colonies on account of their blackness. Light brown colonies are occasionally found on the plates. These, on examination, have proved to be forms which liquefy gelatine. The difference in colour between the black and the brown is quite distinct. We cannot yet say if the brown colony has any significance, from a hygienic standpoint. It is certain that not all liquefying colonies will give the brown discoloration, but the medium would be even more useful and valuable if we could ascertain both the number of colonies of the coli group and the number of colonies in the liquefying groups, from aesculin bile salt agar plates.

At this stage of our work, we can hardly suggest a numerical standard for B. coli, but we may suggest that if the 100000 bacteria per c. c. standard is in use, the number of B. coli and B. aërogenes should not exceed 1000 per c. c., or 1 %. Possibly a different standard would be necessary for certified milks, or where the standard was 10000 bacteria per c. c. These points can be better determined after other laboratory workers have given this method a trial. We are of the opinion — as a result of our analyses — that compared with ordinary beef peptone agar, aesculin bile salt agar gives a better appreciation of the sanitary condition of milk samples, and gives such results in 24 hours. If in routine examination of milk, only one set of plates was made from each sample, we should prefer to use aesculin bile salt agar, as it would give us a better idea of the sanitary condition of the cows, stables and milking. The details in connection with the preparation of aesculin bile salt agar are given in the paper already referred to, and the results of a number of examination of milk samples by this method, compared with others, have been submitted in detail to the Milk Committee of the American Public Health Association.

Reference.

1) Harrison, F. C., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. p. 359.

Nachdruck verboten.

Die Benennung der Milchsäurebakterien.

Notiz zu der Arbeit von S. A. Severin: „Einige Ergebnisse und Bemerkungen über den sogenannten Bacillus bulgaricus" (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XXII. p. 3).

Von Dr. **F. Löhnis.**

Man darf wohl mit Recht behaupten, daß sich in den beteiligten Kreisen die Ueberzeugung immer mehr Bahn bricht, daß mit der bisher üblichen willkürlichen Benennung der Milch- und speziell der Milchsäurebakterien endlich einmal ein Ende gemacht werden muß. In meiner im XVIII. Bande dieser Zeitschrift (p. 97—149) publizierten zusammenfassenden Arbeit habe ich gezeigt, daß es, vor allem unter Berücksichtigung dessen, was Beijerinck, Kruse, Lehmann, Weigmann u. a. in dieser Richtung bereits geleistet haben, jetzt sehr wohl möglich ist, zu einer übersichtlichen, gut begründeten Gruppierung der Milchsäurebakterien zu gelangen. Daß speziell derjenige Organismus, der bisher gewöhnlich als Bacterium Güntheri Lehm. et Neum. oder als Bacterium lactis acidi Leichm. bezeichnet wurde, zu den Streptokokken zu rechnen ist, kann nicht mehr mit Recht bezweifelt werden. Es ist aber auch offenbar kein nachahmenswertes Verfahren, wenn man, wie A. Wolff[1]) dies kürzlich tat, zwar die Arbeiten zitiert, aus denen die Notwendigkeit der Namensänderung klar hervorgeht, im übrigen aber bei der alten willkürlichen Bezeichnung bleibt, und sogar wieder die Streptokokken von Bact. Güntheri (Bact. lactis acidi Leichm.) zu trennen sucht. Solange man allerdings noch, wie es bei dem genannten Autor der Fall ist, lediglich auf dem veralteten Standpunkte verharrt, so ist ein solches Verfahren wenigstens insofern unbedenklich, als Mißverständnisse bei richtiger Verwendung der früher üblichen Bezeichnungen ausgeschlossen sind. Anders verhält es sich dann, wenn, unter vollständiger Mißachtung aller bisherigen Ordnungsbestrebungen, die Verwirrung der Nomenklatur immer weiter vergrößert wird. Dies ist der Fall in der oben zitierten Arbeit von S. A. Severin, der die gewöhnlichen Milchsäurebakterien „Bacillus lactis acidi" nennt. Welche Unzahl von zum Teil geradezu abenteuerlichen Namen man diesen Organismen bisher beigelegt hat, welches Durcheinander mit den Speciesbezeichnungen „acidi lactici", „lactis acidi" u. s. w. angerichtet wurde, lehrt ein Blick auf die betreffenden Seiten meiner Zusammenfassung. Aber soweit ich wenigstens die Literatur kenne, kam bis auf Severin noch niemand auf den Einfall, den Namen „Bacillus lactis acidi", den Leichmann einem wärmeliebenden, langstäbchenförmigen, gelegentlich schleimbildenden Organismus aus der Gruppe des Bacterium caucasicum gab, für die gewöhnlichen Milchsäure-Streptokokken zu verwenden. Und es muß dringend gewünscht werden, daß Severin in dieser Hinsicht keinen Nachfolger findet.

In diesem Zusammenhange sei hier auch darauf hingewiesen, daß die Bezeichnung Bacterium lactis acidi Leichmann, wie von K. B. Lehmann früher bereits betont wurde, nie existenzberechtigt war, denn der Name wurde schon 1889 von Marpmann für eine von ihm isolierte, dem Bacterium butyri colloideum Lafar nahestehende

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XX. p. 661.

Form vergeben. Die Bezeichnung Bacterium Güntheri Lehm. et Neum. wurde von den Autoren selbst (in der 3. Auflage ihrer Diagnostik) in Streptococcus Güntheri verändert. In der 4. Auflage ihres Werkes haben sie jedoch diesen (auch von mir in meine Zusammenstellung herübergenommenen) Namen fallen lassen, und aus Prioritätsgründen der Bezeichnung „Streptococcus acidi lactici Grotenfelt" den Vorzug gegeben. Demnach hat auch die Bezeichnung Bacterium s. Streptococcus Güntheri keine Existenzberechtigung mehr. Am richtigsten ist es aber meines Erachtens, wenn man auch den Streptococcus acidi lactici Gr. streicht, das alte Bacterium lactis Lister in einen Streptococcus lactis Lister umtauft und diesen sowohl aus Prioritätsgründen wie wegen der Kürze und Eindeutigkeit gleich empfehlenswerten Namen künftighin benutzt. Streng genommen, gehören ja allerdings Streptococcus lactis, Streptococcus pyogenes und Streptococcus lanceolatus zusammen. Wie aber bei den zuletzt genannten Formen praktische Gründe für Beibehaltung der Sonderbezeichnungen sprechen, so dürfte sich auch jene Benennung durchaus empfehlen. Gestattet doch diese Nomenklatur einerseits ein gutes Auseinanderhalten der Milchsäure- und der Mastitis-Streptokokken, andererseits erinnert sie aber auch an die zwischen beiden Unterarten bestehenden verwandtschaftlichen Beziehungen, und kann so wirksam dazu beitragen, daß nicht jede „streptokokkenhaltige" Milch von hygienischen Heißspornen als gefährlich verdächtigt wird.

Während ich die von Severin beliebte Verwendung der Benennung „Bacillus lactis acidi" als durchaus inkorrekt bezeichnen mußte, kann ich ihm andererseits nur beipflichten, wenn er gewichtige Gründe beibringt, die für die Eliminierung des Namens Bac. bulgaricus sprechen. Nur wäre hier zu wünschen gewesen, daß er nicht auf der ersten Stufe stehen geblieben wäre und den wegen der Genusbezeichnung ganz unbrauchbaren Namen Streptobacillus lebenis zu allgemeiner Geltung zu bringen gesucht hätte, sondern sich zunächst aus der vorhandenen Literatur (die doch schließlich nicht deshalb da ist, daß sie nicht berücksichtigt wird!) davon überzeugt hätte, daß die langstäbchenförmigen Milchsäurebakterien aus sämtlichen fermentierenden Milchsorten, aus Kefir, Kumys, Mazun, Leben, Gioddu, Yaourt usw. mit den acidophilen Magen-Darmbewohnern und noch verschiedenen anderen Formen aufs engste zusammengehören. In der ungefähr zur selben Zeit mit meiner zusammenfassenden Uebersicht über die Milchsäurebakterien erschienenen 4. Auflage ihrer Diagnostik kommen Lehmann und Neumann zu einem mit dem meinigen sehr übereinstimmenden Ergebnis; eine kürzlich von W. Kuntze[1]) publizierte Arbeit hat diesen Sachverhalt von neuem bestätigt. Als Speziesname ist hier aus historischen Gründen allein die Bezeichnung Bacterium caucasicum (Beijerinck) Lehm. et Neum. die richtige. Der Autorname Kern, den Lehmann und Neumann an Stelle von Beijerincks Namen führen, muß meines Erachtens fallen, denn Kerns Dispora caucasica war, wie aus der Originalbeschreibung[2]) ganz klar hervorgeht, eine Form aus der Subtilis- oder Mesentericus-Gruppe (die Sporen hielten 1 Stunde die Siedehitze aus; die Keimung wurde mikroskopisch verfolgt), erst Beijerinck[3]) hatte den richtigen Kefirbacillus in Händen. Die große Zahl

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XXI. p. 737.
2) Biologisches Centralblatt. Bd. II. 1882. p. 135.
3) Archives néerlandaises. T. XXIII. 1889. p. 428.

von Varietäten, die auch diese Gruppe aufweist, macht allerdings Sonderbezeichnungen nötig, aber es wäre wohl wünschenswert, wenn diese, und namentlich die aus praktischen Gründen oft recht empfehlenswerten Trivialbezeichnungen stets so gewählt würden, daß man ohne weiteres versteht, was damit gemeint ist. Daß Severin mit schleimbildenden bezw. nicht schleimbildenden Formen der Yoghurtbakterien gearbeitet hat, wäre z. B. entschieden leichter im Gedächtnis zu behalten, wenn von ihm die entsprechenden, zu keinerlei Mißverständnis Veranlassung gebenden Trivialbezeichnungen an Stelle der weder existenzberechtigten, noch charakteristischen Namen Streptobacillus lebenis α und β verwendet worden wären.

Mit den Mikrokokken aus Milch, Butter und Käse verhält es sich ganz analog. Sicherlich würde es nichts schaden, wenn die zahllosen Beschreibungen „neuer Arten“ eine Einschränkung erführen, statt dessen die neu beobachteten Varietäten an der Hand der vorhandenen Zusammenstellungen mit den schon bekannten Formen in Beziehung gesetzt, und gleichzeitig erforderlichenfalls durch eine kurze Bemerkung in ihrer (meist doch wenig konstanten) Eigenart charakterisiert würden. Die schönen Untersuchungen, die G. Bredemann[1]) gegenwärtig im Marburger botanischen Institut durchführt, zeigen zunächst für eine große Zahl sporenbildender Bakterien, wie bisher als ganz verschieden angesehene „Arten“ sich bei eingehender Untersuchung in Wirklichkeit nur als Varietäten einer Art erweisen. Die zahlreichen und zum Teil lückenlosen Uebergänge, die innerhalb der vier Hauptgruppen von Milchsäurebakterien bestehen, weisen aber gleichfalls mit unverkennbarer Deutlichkeit darauf hin, daß es sich hier um einander verwandte Formen handelt. Existenzberechtigung haben meines Erachtens nur die Namen: Bacterium acidi lactici Hueppe, Streptococcus lactis Lister, Bacterium caucasicum (Beijck.) Lehm. et Neum., Micrococcus lactis acidi Marpm. und, im ersten, zweiten und vierten Falle auch sie nur als Bezeichnungen für die nichtpathogenen milchsäureproduzierenden Formen aus den Gruppen: Bacterium pneumoniae Friedl., Streptococcus pyogenes Rosenbach und Micrococcus pyogenes Rosenbach.

Ueber Sauerkrautgärung und ihre Erreger.

[Mitteilung aus dem Pharmac. Institut der Herzogl. technischen Hochschule in Braunschweig.]

Von Dr. **Th. Gruber,** Braunschweig.

Der leitende Gedanke zu diesen Untersuchungen resultierte aus der Anwendung der Reinkulturen bei der Butterbereitung im Molkereigewerbe. Diese Reinkulturen, die aus kräftig und aromatisch säuernden Vertretern der echten Milchsäurefermente bestehen, haben in der Praxis den Zweck, eine immer gleichmäßig sauere und aromatische Butter mit größerer Haltbarkeit zu erzielen; diese beiden wichtigen Punkte werden in der Praxis bei richtiger sachgemäßer Ausführung vollauf erfüllt, aber noch mehr, es tritt eine rationellere Verwertung des Butterfettes ein, es wird mehr Butter erhalten wie ohne Anwendung der Reinkulturen.

1) Berichte d. dtsch. botan. Gesellschaft. XXXVI a, 1908. p. 362 (Bac. amylobacter); Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XXII. p. 44 (Bac. asterosporus).

Treten ferner im Meiereibetriebe Störungen ein, die auf die Butterbereitung einen störenden Einfluß ausüben, treten Butterfehler ein, so sind die Reinkulturen, und zwar frische, also kräftig und aromatisch säuernde, die berufenste Hilfe zur Entfernung der in eine Meierei eingeschlichenen Butterfehler.

Ausgehend von diesen bekannten Vorzügen und Eigenschaften dieser Reinkulturen, wollte ich die Sauerkrautbereitung durch Anwendung spezieller Fermente in weniger vom Zufall abhängendere und somit sichere Bahnen zu lenken. Einerseits sollten diese rein gezüchteten Erreger der Sauerkrautgärung die Reifung, die Fermentation des Weißkohles beschleunigen im Vergleich zu der heutigen Fabrikation, andererseits sollte bezweckt werden, die großen Verluste, die durch unrichtige Gärung sich einstellen, auszuschalten. Es ist mit völliger Sicherheit anzunehmen, daß diese Fermentkulturen bei der Fabrikation des Sauerkrautes bei den Fabrikanten ein großes Interesse hervorrufen werden, und daß sich dieselben, natürlich unter der Voraussetzung, daß sie den an sie gestellten Forderungen in jeder Beziehung gerecht werden, in den betreffenden Kreisen sich Eingang verschaffen und einbürgern werden.

Zur Isolierung solcher spezifischer Mikroorganismen, die an der Gärung des Kohles beteiligt sein können, wurde von 3 verschiedenen Produkten ausgegangen. 1) Von gekauftem; 2) von selbst bereitetem Sauerkohl und 3. von Weißkohl selbst.

Ad. 1 Das gekaufte Sauerkraut wurde mit möglichst wenig sterilem Wasser in sterilem Kolben innig geschüttelt und gleichsam eine Zeitlang ausgelaugt. Das sich absetzende opaleszierende Wasser wurde zur Aussaat benützt, sowohl zu aëroben Platten wie anaëroben Schüttelkulturen unter geringem Zusatz von Milchzucker, die Kulturen wurden bei 18°—20° und bei 34,5 der Entwickelung überlassen. Die Platten zeigten ein einheitliches Kolonieenbild, kleinere und größere Tiefenkolonieen, die Schüttelkulturen schlossen dieselben Kolonieen ein. Die möglichst zahlreich abgeimpften Stämme bestanden hauptsächlich aus zwei Arten, Milchsäurefermente und sporulierende Arten, letztere gehörten der Heu- und Kartoffelbacillusgruppe an. Die Milchsäurefermente hatten die typische Kokkenform, manchmal mehr oval werdend, diese Stämme zeichneten sich physiologisch dadurch aus, daß sie nur sehr schwach sterile Magermilch säuerten und erst nach 6—8 Wochen ein schwach sämiges Koagulum herbeiführten. Vereinzelt stellte sich ein Bakterium ein, das sich mit der Gruppe Pseudomonas coli identifizieren ließ, aber bezüglich seiner Gärfähigkeit ziemlich avirulent war.

Das opaleszierende Wasser, in Milch übertragen, koagulierte dieselbe bei Zimmertemperatur nach 6 Wochen, das Koagulum war nur schwach sämig und leicht beweglich. Schwach säuernde Milchsäurefermente waren auch nur in dieser sähmigen Milch beinahe als Reinkultur vorhanden. Bei höherer Temperatur (34,5°) erfolgte eine sämige Gerinnung nach 14 Tagen, die Coli-ähnliche Bakterienart kam nicht zum Durchbruch. Die zuvor isolierte Coli-Art wurde zwecks praktischer Versuche aufbewahrt.

Ad 2. Die Kohlköpfe wurden von den äußersten Blättern befreit, die Strunke entfernt, dann möglichst reinlich gehobelt, in Töpfe gebracht, gesalzen, eingestampft und mit Gewichten beschwert. Für das sich bildende Wasser wurde Vorkehrung getroffen, daß es leicht abfließen konnte. Nach 8 Tagen erfolgte bei Kellertemperatur starke Gärung, die sich durch intensive Schaumbildung äußerlich charakterisierte, welche durch die auftretenden Gase und durch die Anwesenheit gelöster Eiweiß-

stoffe verursacht wurde. Ein Färbepräparat aus der gärenden Flüssigkeit schien Reinkultur eines mehr oder minder ovalen, etwas schlanken Stäbchen zu sein, das ziemlich häufig sich als Diplostäbchen mit beiderseits zugespitzten Enden präsentierte. Im hängenden Tropfen waren sämtliche Individuen mit lebhafter Bewegung versehen. Agarplatten bei 34,5° und Gelatineplatten bei Zimmertemperatur, angelegt aus der Gärungsflüssigkeit, ergaben nur die Anwesenheit eines Bakteriums, das in den Gelatinekulturen dem Coli-Typus sehr nahe stand. In den anaëroben Kulturen in Gelatine und Agar entwickelten sich nur spärlich Kolonieen, die aber mit dem bereits zuvor erwähnten Mikroorganismus identisch waren, die behufs weiterer Beobachtungen aufbewahrt wurden. Sterile Milch, mit dieser Reinkultur infiziert, gerät bei 34,5° und 18° C in deutliche Gärung.

Ad. 3. Weißkohl, anderer Provenienz wie der zur Krautbereitung verwandte, wurde als solcher mit sterilem Wasser einige Stunden digeriert und dann wurden die Mikroorganismen wieder isoliert. In diesem Falle wurden nur echte Milchsäurebakterien und Coli-Stämme aufgefunden, die sich mit der unter 2 erwähnten Art völlig deckten.

Das Aufschwemmwasser des Weißkohls in Milch übertragen rief bei Zimmertemperatur wie Bruttemperatur Gärungserscheinungen hervor; bei Bruttemperatur konnten nur Coli-Stämme und bei Zimmertemperatur letztere und Milchsäurebakterien nachgewiesen werden.

Zusammengefaßt, ergaben diese Voruntersuchungen zur Auffindung der Gärungserreger in Sauerkraut, daß die isolierten Arten der Gruppe Pseudomonas coli wahrscheinlich in kausalem Zusammenhang mit der Fermentation des Weißkohles stehen.

Die Anwesenheit eines Coli-ähnlichen Bakteriums der Sauerkohlgärung erwähnt schon 1897 Konrad[1]), welches Milchsäure, etwas Buttersäure, Essigsäure, Kohlensäure, Wasserstoff und Methan produziert und beweglich ist; er nennt diesen Coli-Stamm Bacterium brassicae acidae. Außer diesem fand er noch zwei Saccharomyces-Arten, bei meinen Untersuchungen fand sich keine Hefe ein. Im Gegensatze zu diesem beweglichen Organismus gibt Wehmer[2]) ein unbewegliches, kein Gas produzierendes, nicht peptonisierendes, fakultativ anaërobes Bakterium, das Bacterium brassicum, an. Ein dem Bacillus Delbrückii ähnlicher Mikroorganismus, den Bacillus brassicae fermentatae, bezeichnet Henneberg[3]) als mutmaßliches Gärungsferment, das er mit Bacillus cucumeris morphologisch identisch hält. Perekalin[4]) erwähnt auch ein Bakterium, das bei der Sauerkrautgärung von ihm im Jahre 1905 isoliert worden ist.

Die von mir isolierten gasproduzierenden Coli-ähnlichen Stämme wurden eingehend untersucht und verglichen, sie waren alle einander identisch, nur in physiologischer Beziehung trat eine kleine Differenz auf, ihr Gärungsvermögen war bald schwächer bald stärker. Morphologisch variierten die Abmessungen kaum, polar begeißelt waren alle und besaßen 1—2 solcher Bewegungsorgane.

Als Reinkultur für die anzustellenden Gärungsversuche wurde der Stamm gewählt, den ich aus dem selbst eingemachten Weißkohl züchtete und der die größte Gärkraft aufwies. Unter wohl richtiger Voraussetzung der Identität mit dem Konradschen Mikroorganismus und

1) Archiv für Hygiene. Bd. XXIX. 1897. p. 56—65.
2) Centralblatt f. Bakteriologie. Abt. II. Bd. X. 1903. p. 625.
3) Henneberg, Zeitschr. f. Spiritusindustrie. Bd. XXVI. 1903. p. 322.
4) Perekalin, Pure Products. 1907. p. 556—559.

unter Zugrundelegung des Migulaschen Systems bezeichnete ich diese Coli-Art als **Pseudomonas brassicae acidae.** Nun galt es, ein Nährmedium zu finden, das einerseits günstige Wachstumsbedingungen dieser Bakterien bieten konnte, andererseits durfte das angewandte Nährsubstrat selbst keinen schädigenden Einfluß auf das resultierende Sauerkraut ausüben. Zunächst mußte der Gedanke liegen, einen sterilisierten Auszug des Weißkohls in Anwendung zu bringen. Das Wachstum dieser Pseudomonas in dieser Nährflüssigkeit war zwar kein überaus gutes zu nennen, aber zu den in Frage stehenden Versuchen waren sie brauchbar.

Mit der größten Sauberkeit wurden, nach Entfernung der äußersten Blätter und der Strünke, die Köpfe gehobelt und sofort in Töpfe von 5—10 Kilo Inhalt eingestampft. Lagenweise wurde das Kraut geschichtet mit Salz bestreut, im Verhältnis 50:1,5, dann mit der flüssigen Reinkutlur ungefähr 5 Proz. besprengt und möglichst fest eingestampft. Das so lagenweise gefüllte Gefäß wurde mit Steinen beschwert, für Abfluß des sich ansammelnden Wassers gesorgt und in einem kühlen Keller gebracht. Zur Vergleichung wurden solche Töpfe ohne Reinkultur angefertigt. Am 3. Tage war bei sämtlichen Proben mit Reinkulturen die Gärung schon stark im Gange, während die Kontrollproben erst nach acht Tagen in die Gärung eintraten. Nach vollendeter Gärung wurden Kostproben vorgenommen, sowohl mit gekochter wie ungekochter Ware; die mit Reinkultur geimpften Proben waren bedeutend aromatischer und zarter wie die Kontrollproben. Die Reinkulturen hatten noch den Vorteil, daß sie die Reifung des Kohles in bedeutend kürzerer Zeit zu Ende führten. Die von mir in dieser Beziehung angestellten Versuche konnten sich nur mit geringen Mengen, höchtens 10 Kilo, befassen, und um ein endgültiges Urteil über die Wirkung solcher Reinkulturen zu fällen, müssen noch in praxi mit bedeutend größeren Mengen diesbezügliche Erfahrungen gesammelt werden, was mir bis heute nicht möglich war. Ferner halte ich diese flüssigen Reinkulturen zum Versuch sehr unpraktisch und für den Großbetrieb unhandlich. Mit der Herstellung von Trockenkulturen bin ich zurzeit beschäftigt, und behalte mir vor, über die Ergebnisse solcher Trockenkulturen später eingehend berichten zu können.

Kurze Beschreibung von Pseudomonas brassicae acidae.

Gelatineplatten (15 Proz.). 48 Stunden nach der Aussaat.

Flach ausgebreitete, manchmal weinblattartige, gelappte und gebuchtete, gallertartig aussehende, im durchfallenden Lichte bläulich schimmernde, etwas trockene Oberflächenkolonieen; sie besitzen ganz und gar den Habitus der Kolonieen der Coli-Arten.

Die Tiefenkolonieen sind runde bis ovale, grauweiße Gebilde, die, an die Oberfläche gelangt, sich sofort flach ausbreiten. Bei 80-facher Vergrößerung erscheinen die Oberflächenkolonieen im Innern marmoriert, homogen fein gekörnt, am Rande durchscheinend. Die Tiefenkolonieen glattrandig, im Innern gekörnt, am Rande radiär gestreift.

Am 4. Tage haben die Oberflächenkolonieen an Ausbreitung nur wenig zugenommen; mikroskopisch betrachtet, haben die Kolonieen konzentrische Schichtung angenommen, der Rand ist durchsichtig und hat Marmorierung angenommen, im Zentrum haben die Kolonieen lockenförmige und wellenförmige Zeichnungen erhalten.

Die Tiefenkolonieen sind unter dem Mikroskop sehr charakteristisch und völlig gleichartig gezeichnet. Längs der Mittellinie von einem Pole zum anderen gedacht, gehen rechts und links zu dieser Linie feine, dichtgedrängte, parallel gelagerte Fäden, deren Spitzen in der Nähe des Randes endigen. Der glatte Rand ist verschwunden, es treten Ausstülpungen und Ausbuchtungen ein Dieses mikroskopische Bild ist und bleibt charakteristisch für die in der Gelatine befindlichen Kolonieen.

Gelatine-Stichkultur (15 Proz.) bei 15° C.

Nach 4 Tagen ist im Kanal wie auf der Oberfläche deutliches Wachstum zu beobachten, im Nährmedium selbst haben sich eine Menge Gasblasen angesammelt. Die um die Stichöffnung sich befindliche Kolonie ist flach ausgebreitet, ausgebuchtet, im

durchfallenden Lichte bläulich schimmernd, glänzend gellertartig. Am 8. Tage ist das Innern der Kolonieen konzentrisch geschichtet, festungsartig gezeichnet.

Gelatine-Strichkultur (15 Proz.) bei 18° C.

Ein dünner, in auffallendem Lichte bläulich schimmernder, in durchfallendem Lichte kaum sichtbarer, gelappt und gebuchteter, ziemlich gleichmäßig breiter, mattglänzender, flach ausgebreiteter, trockenbreiiger Belagstreifen hat sich nach zwei Tagen an dem Impfstriche entwickelt. Nach weiteren zwei Tagen hat der flach ausgebreitete Belagstreifen die Glasränder erreicht.

Agarplatten bei 18—20° C.

Nach 48 Stunden ist auch hier gutes Wachstum zu verzeichnen. Bis 8 mm im Durchmesser fassende völlig runde, stark glänzende, schleimig aussehende, im durchfallenden Lichte bläulich schimmernde, in der Mitte erhabene Kolonieen von wässerig breiiger Konsistenz bedecken die Nährbodenoberfläche. Die Tiefenkolonien sind ebenfalls rund, beide sind, mikroskopisch betrachtet, rund, glattrandig und grobgekörnt. Eine Veränderung der Kolonieen tritt späterhin nicht mehr ein.

Agarstrich bei 18—20° C.

Längs des Impfstriches wächst innerhalb 48 Stunden ein breiter, grauweißer, glänzender, wässerig breiiger Belagstreifen heran. Im hängenden Tropfen zeigen die Bakterien, die aus dem Kondenswasser der 48-stündigen Agarkultur stammen, eine lebhafte Bewegung, und zwar eine solche, wie der polarbegeißelten Pseudomonas zukommt. Die Geißelfärbung nach Zettnow ergab die Anwesenheit von 1—3 polaren Cilien.

Sterile Magermilch bei 18° C.

Innerhalb 3 Tagen erfolgt eine mäßige Gasentwickelung, die beim Schütteln deutlich zu erkennen ist, Koagulation tritt nach 6 Tagen ein, das Koagulum ist sämig, Reaktion deutlich sauer.

Der Nachweis der Indolbildung dieser Bakterien war deutlich in der bekannten Lösung (10 Pept. + 10 Chlornatrium ad 1000,0 Wasser erkennbar, die denitrifizierende Eigenschaft in vorhergehender Flüssigkeit mit 1-proz. Kaliumnitratzusatz war stark ausgebildet.

Für die Benennung Pseudomonas coli waren alle die nötigen diagnostischen Punkte für Coli und für die Gattung Pseudomonas erfüllt.

Nachdruck verboten.

Durch Bakterien vergiftetes Korn.

Von Dr. **Hugo Kühl**, Darmstadt.

Zur Untersuchung gelangte Weizen, durch dessen Genuß Hühner eingegangen waren.

1) Der Keimversuch ergab das Vorhandensein zahlreicher Schimmelpilze, die zumeist den Mucoraceen angehörten; die Pilzhyphen umrankten förmlich die Keime. Eine Herabsetzung der Keimkraft war nicht zu konstatieren.

2) Die bakteriologische Untersuchung ergab das Vorhandensein von Diplokokken, denen pathologische Eigenschaften zukamen.

Die bakteriologische Analyse wurde in nachfolgender Weise ausgeführt:

Als Substrat diente Bouillon, die bereitet wurde durch Extraktion von $^1/_2$ kg Pferdefleisch mit 750 ccm Wasser unter Zusatz von 15 g Kochsalz und 4 g Pepsin. Ferner gelangte zur Benutzung eine Lösung von Traubenzucker in kochsalzhaltendem Fleischwasser.

Am 3. September wurde sterilisierte Nährbouillon mit mehreren Körnern des verdächtigen Getreides geimpft. Die Kultur wurde im Brutschrank bei 30° C. aufbewahrt. Nach einem Tage trat starkes Schäumen auf unter gleichzeitiger Färbung der Bouillon. Die ursprünglich goldgelbe Farbe ging über in mattweiß.

Am Vormittag des 4. September wurde übergeimpft auf neue sterilisierte Bouillon. Am Nachmittag desselben Tages, also nach etwa 4—5 Stunden, trat starkes Schäumen wieder ein.

Am 5. September wurde oben beschriebene Traubenzuckerlösung geimpft.

Am 7. September wurden Röhrchen, die 10 ccm sterilisierte Bouillon

enthielten, geimpft mit der zweiten Bouillonkultur, ferner wurden 75 ccm Bouillon im Erlenmeyer-Kölbchen geimpft. Diese Kultur erhitzte ich dann 20 Minuten auf 65° C, um nach Möglichkeit sporenfreie Bakterien auszuschalten.

Die zuerst im Röhrchen geimpfte Kultur diente zum Plattengießen. Am 10. September wurden 3 Bouillongelatineröhrchen geimpft, und in bekannter Weise Platten gegossen. Am 11. September traten große plattrandige, durchscheinende Kolonieen hervor. Aus der mikroskopischen Prüfung ging hervor, daß eine Reinkultur von Diplokokken vorlag. In Stickkultur zeigten letztere fakultativ anaërobes Wachstum.

Mit der erhaltenen Reinkultur wurden jetzt tierphysiologische Versuche in nachfolgender Weise angestellt:

Am Vormittag 11 Uhr wurde eine Maus am linken Schenkel mit den Diplokokken direkt geimpft. Schon nach kurzer Zeit wurde das anfangs sehr lebendige Tier müde; am Nachmittag trat eine starke, fieberähnliche Erscheinung auf, und gegen Abend verendete die Maus.

Sofort am nächsten Morgen wurde sie seziert und Herz, Milz, Lunge untersucht. In Herz und Lunge waren die Diplokokken sicher nachweisbar. Auch in Kulturen, die mit Hilfe genannter Körperteile hergestellt waren, gelang der Nachweis der Diplokokken vollkommen. — Färbung mit Karbolfuchsin nach Ziehl-Neelsen.

Gleichzeitig mit dem soeben genannten Versuch wurden 3 andere Experimente zur Feststellung des Giftwertes ausgeführt.

10 ccm sterilisierter Kochsalzlösung, 0,75 Proz. Chlornatrium enthaltend, wurden mit einer Kolonie geimpft; diese dann durch vorsichtiges Umschwenken möglichst verteilt. Vollkommen gelang es nicht, weil infolge von Schleimabsonderung die Bakterien aneinander klebten.

Es wurden nun durch subkutane Injektion mit der Flüssigkeit 3 weiße Mäuse und ein Spatz geimpft. Der ersten Maus wurden 0,3 ccm, der zweiten 0,2 und der dritten 0,1 cm eingespritzt am linken Schenkel. Der Spatz erhielt am Steiß eine Injektion von 0,2 ccm. Eine Veränderung in seinem Befinden konnte nicht konstatiert werden. Bei den Mäusen trat die schon beschriebene Krankheitserscheinung auf, und zwar am stärksten bei der mit 0,3 ccm geimpften. Die Einspritzung wurde am Vormittag gemacht; am Nachmittag waren die Tiere schwach und keuchten, erholten sich dann aber wieder und waren am nächsten Morgen frisch.

Endlich wurde noch folgender Versuch ausgeführt: 2 Mäuse wurden 3 Tage hindurch mit dem Weizen gefüttert. Es trat keinerlei Vergiftungserscheinung auf.

Somit darf gefolgert werden, daß die Diplokokken nur dann eine giftige Wirkung äußern, wenn sie ins Blut gelangen, tödlich wird dieselbe bei stärkerer Infizierung.

Aus den mit Traubenzuckerlösung kultivierten Kolonieen gelang es mir, dieselben Bakterien zu züchten. Auf den ganz analog ausgeführten Gang der Untersuchung will nicht näher eingehen.

Interessant ist, daß durch die zahlreichen Schimmelpilze keine gesundheitliche Störung wahrgenommen wurde. Die Mäuse nagten mit wahrer Freude an den durch Schimmel muffig riechenden Körnern.

Ferner fiel es auf, daß die Bakterien nur im Blute giftige Wirkungen äußerten, nicht im Darm. Anderenfalls hätten die Mäuse beim Genuß des infizierten Kornes eingehen müssen.

Schuldig an der Infektion dürfte sein, daß der Weizen nicht trocken eingebracht und lufttrocken aufbewahrt wurde, somit ein günstiges Substrat für Pilze bildete.

Untersuchungen über die Stickstoffsammlungsvorgänge in ihrer Beziehung zum Bodenklima.

[Mitteilung aus dem Institut für Boden- und Pflanzenbaulehre an der Kgl. Landw. Akademie in Bonn-Poppelsdorf.]

Von Prof. Dr. **Th. Remy**-Bonn.

Mit 1 Figur und 11 Tafeln.

A. Leitende Gesichtspunkte.

Aus den Erfahrungen der Gärungsgewerbe ergeben sich gewisse für das Zusammenleben der Mikroorganismen in gärenden Flüssigkeiten maßgebende Gesetzmäßigkeiten, auf welchen M. Delbrück[1]) seine Lehre von der natürlichen Reinzucht aufbaute. Sie zeigt, wie man durch Gewährung oder Vorenthaltung günstiger Lebensbedingungen bestimmte Arten der einen natürlichen Nährboden bevölkernden Kleinlebewelt zur Vorherrschaft bringen oder zurückdrängen kann. Die Gesamtheit der die Kleinlebewelt eines Nährbodens beherrschenden Lebensbedingungen bezeichnet Delbrück kurz als „Klima". In diesem Sinne ist auch nachfolgend der Begriff „Bodenklima" gebraucht. Auch zu der einleitend entwickelten Auffassung der bodenbakteriologischen Probleme hat Delbrücks Lehre von der natürlichen Reinzucht der Gärungsorganismen mehrfach die Anregung gegeben. Die natürliche Reinzucht ist das einzig durchgreifende Mittel, um die Kleinlebewelt in solchen Verbreitungsmitteln, in welchen sie unserer unmittelbaren Beeinflussung schwer zugänglich ist, zu beherrschen. Das ist kaum irgendwo wichtiger als beim natürlich gelagerten Boden. Denn einerseits ist dieser seiner Masse wegen der direkten bakteriellen Einwirkung fast entrückt; andererseits wird die Bodenfruchtbarkeit durch die Kleinlebewelt weitgehend mitbeeinflußt. Die natürliche Reinzucht ist bei der Bodenkultur zweifellos auch der vielseitigsten Anwendung fähig, wenn ihre Grundlagen erst in ähnlicher Weise wie die der Gärungsbiologie ausgebaut sind. Die nachfolgend behandelten Ergebnisse einer über 6 Jahre verteilten Versuchstätigkeit stellen einen Anlauf in dieser Richtung dar. Sie beschränken sich in der Hauptsache auf die stickstoffsammelnden Bakterien, für welche die Beobachtungen einen gewissen vorläufigen Abschluß erreicht haben. Die in derselben Zeit gesammelten Erfahrungen über die Fäulniskräfte des Bodens, ihre Messung und Beherrschung werden demnächst gesondert zur Veröffentlichung gelangen. Neben dem Berichterstatter beteiligten sich die Herren Dr. G. Rösing, J. Stamm und Dr. A. Trieschmann, bis 1905 auch Herr Hinrichs-Berlin als Analytiker vielfach an den nachfolgend behandelten Untersuchungen. Sie beziehen sich besonders auf zwei eng zusammenhängende Fragen:

1) Bestehen Beziehungen zwischen dem Klima und den stickstoffsammelnden Kräften eines Bodens?

2) Wie lassen sich die letzteren methodisch am einfachsten bestimmen?

Unter den zahlreichen neueren Feststellungen über die stickstoffsammelnden Kleinlebewesen des Bodens ragen zwei Gesichtspunkte durch grundsätzliche Bedeutung und praktische Tragweite hervor:

1) Wochenschr. f. Brauerei. 1905. p. 65 ff.

1) Es gibt außer den Knöllchenbakterien im Boden noch andere Kleinlebewesen, die unter bestimmten Voraussetzungen Stickstoff sammeln.

2) Mit den Bakterien lassen sich ihre stickstoffsammelnden Kräfte nicht ohne weiteres von Boden zu Boden verpflanzen. Nur die Knöllchenbakterien der Hülsenfrüchtler bilden in dieser, wie in mancher anderen Beziehung eine Ausnahme. Sie mögen aber von vornherein ganz aus der Erörterung ausscheiden, da unsere Untersuchungen die Knöllchenbakterien überhaupt nicht berühren.

Die Arbeiten von Winogradsky[1]) und Beijerinck[2]), welchen es zuerst gelang, Kleinlebewesen des Bodens zu isolieren, die in Nährlösung Stickstoff sammeln, sind so bekannt und so oft gewürdigt, daß hier jeder weitere Hinweis überflüssig sein dürfte. Ueber neuere erfolgreiche Isolierungsversuche stickstoffsammelnder Bakterien berichten Löhnis[3]), Haselhoff[4]) und Bredemann, sowie H. Pringsheim[5]). Zusammenfassende Besprechungen der bis 1904 erschienenen einschlägigen Arbeiten liegen von Warmbold[6]) und Koch[7]) vor.

Die Zeit, in der die landwirtschaftliche Bakteriologie ihre Kräfte ganz überwiegend in der Suche nach neuen stickstoffsammelnden Bodenbakterien erschöpfte, liegt noch nicht fern. Man wähnte, durch Vermittelung von Impferde oder Reinkulturen nicht allein bestimmte Kleinlebewesen, sondern auch deren fakultative Kräfte ohne weiteres von Boden zu Boden übertragen zu können. Wäre das wirklich möglich, so gäbe es in der Tat keine verlockendere und praktisch wichtigere Aufgabe für den im Dienst der Landwirtschaft stehenden Forscher, als immer neue und wirksamere Stickstoffsammler zu finden und mit ihrer Hilfe den Luftstickstoff in ausgiebigstem Maße für die Kulturgewächse nutzbar zu machen. Aber die Zahl der durch Impferde oder Bakterienkulturen übertragenen Kleinlebewesen ist im Verhältnis zur geimpften Bodenmasse gewöhnlich nur klein. Sollen durch Impfung trotzdem greifbare Wirkungen ausgelöst werden, so muß der Uebertragung zunächst eine Vermehrung folgen. Voraussetzung für sie ist ein Boden mit zusagendem Klima. Noch ausgesprochener als die Vermehrung dürfte die Stickstoffsammlung selbst, die nur eine fakultative Verrichtung der Kleinlebewesen ist, an fest umschriebene und im Boden nicht immer gegebene Voraussetzungen geknüpft sein. Deshalb wird das Bodenklima die Gestaltung und das Wirken der Kleinlebewelt der Ackererde in der Regel ungleich mehr beeinflussen als eine künstliche Ansaat bestimmter Arten, zumal die natürliche Vorsorge für die Verbreitung der Mikroben meist so wirksam ist, daß diese auch ohne künstliche Ansaat bald überall zur Stelle sind, wo sich ihnen ein Tätigkeitsfeld neu eröffnet. Die Anpassung des „Bodenklimas" an die Bedürfnisse der Stickstoffsammler ist also das Ziel, welches zwecks erhöhter Nutzbarmachung des Luftstickstoffs mittels der Kleinlebewesen in erster Linie anzustreben ist. Die Impfung dagegen ist nach dem heutigen Stande unserer Kenntnisse lediglich ein sekundäres Mittel zur Beschleunigung der einem Klimawechsel auch ohnedies langsam folgenden Aenderungen im Bakterienbestande des Bodens.

1) Compt. rendus 1893. Bd. CXVI. p. 1385.
2) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VII. p. 561 ff.; Bd. IX. p. 3 ff.
3) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. p. 582—604.
4) Landw. Jahrb. 1906. p. 381—414.
5) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVI. 1906. p. 795.
6) Landw. Jahrb. 1906. p. 1—123.
7) Lafars Handbuch d. techn. Mykol. Bd. III. p. 1—22.

Bei der Anpassung des Bodenklimas an die besonderen Bedürfnisse der Stickstoffsammler darf man natürlich nicht übersehen, daß die lediglich durch das physiologische Merkmal stickstoffsammelnder Fähigkeiten verbundenen Mikroben in mancher Beziehung grundverschieden sind. Für die Beurteilung der landwirtschaftlichen Bedeutung ist es besonders wichtig, ob ein Stickstoffsammler in seiner Tätigkeit durch die aus mancherlei Gründen notwendigen Maßnahmen des Lockerns, des Lüftens und der Säurebindung im Boden gefördert oder gehemmt wird. Im Haushalt der Natur, im Walde, auf dauernden Futterfeldern mögen alle Stickstoffsammler gleich wichtig sein. Für den Ackerbau dagegen haben jene Arten überragende Bedeutung, denen das durch die üblichen Kulturmaßnahmen geschaffene Bodenklima zusagt. Schon aus diesem Grunde dürften die anaëroben und säureverträglichen Winogradskyschen Clostridium-Arten an landwirtschaftlicher Bedeutung gegenüber Beijerincks Azotobacter chroococcum, welches mit seiner Vorliebe für gut durchlüftete und vollständig entsäuerte Böden ein echtes Kind gehobener Bodenkultur ist, zurücktreten. Zugunsten des Azotobacter chroococcum und wahrscheinlich auch einer Reihe von ähnlichen Azotobacter-Arten oder -Varietäten spricht weiter:

1) Daß sie die Kraftquelle mit ungleich höherer Nutzwirkung verarbeiten als die sonstigen genauer geprüften Stickstoffsammler.

2) Daß sie ihrer verhältnismäßig großen Körpermasse wegen mehr Stickstoff als die übrigen Stickstoffsammler verwerten können, was insofern wichtig ist, als die Stickstoffverwertung zugleich das Höchstmaß der Stickstoffsammlung durch einen Organismus darstellen dürfte.

Alle diese Erwägungen veranlaßten dazu, den nachfolgend beschriebenen Untersuchungen eine Anordnung zu geben, die den besonderen Bedürfnissen der Azotobacter-Arten tunlichst Rechnung trug.

B. Eigene Beobachtungen.

Die ersten einschlägigen Beobachtungen des Berichterstatters gehen auf das Jahr 1902 zurück. Eine Beschreibung des ursprünglich zur bakteriellen Bodenuntersuchung benutzten Verfahrens findet sich in den „Landw. Jahrbüchern". 1906. Ergänzungsbd. IV. Mit Rücksicht auf die in vieler Beziehung unzulängliche Methodik bei den ersten Tastversuchen mögen ihre Ergebnisse nur in ganz kurzen Umrissen wiedergegeben sein.

I. Tastversuche in den Jahren 1903 und 1904.

Zum 1. Versuch wurden Bodenproben eines in den „Landw. Jahrbüchern". 1906. Ergänzungsbd. IV [1]) genauer beschriebenen Feldversuches im Berliner Versuchsfeld benutzt. Die als A bezeichnete Probe entstammte einem Versuchsfeldteilstück, welches im November 1902 auf 25 cm Tiefe wendend bearbeitet war, während die B-Probe von einem auf 40 cm Tiefe wendend bearbeiteten, im übrigen aber gleich behandelten Feldteil herrührte. Einer jetzt landläufig gewordenen Ansicht nach sollen die in den obersten Bodenschichten enthaltenen nützlichen Mikroorganismen durch eine tiefe Unterbringung vernichtet werden. Trotzdem war die Gesamtwirkung der Tiefbearbeitung im vorliegenden Falle eine entschieden günstige, da in Kilogramm vom Hektar geerntet wurden:

1) p. 58 und Tabelle XVI. p. 21.

Tabelle I.

Teilstück	1903	1904	
	Up to date-Kartoffeln	Roggenkörner	Roggenstroh
A	145	18,2	52,3
B	171	21,9	64,5

Auch die Stoppellupinen widerstanden in dem sehr trockenen Herbst 1904 auf der tief bearbeiteten B-Parzelle der Dürre weit besser, als auf dem flach bearbeiteten Teilstück A. Daß die Bakterien bei der Tiefbearbeitung nicht ganz mit dem Schrecken davon gekommen waren, zeigen die im März 1903 entnommenen und untersuchten Bodenproben.

Tabelle II.

Behandlung des Feldteils	Vom Gesamtstickstoff einer 1-proz. Peptonlösung waren in 8 Tagen abgebaut[1]) Proz.	In Giltay-Lösung war Salpeter vollständig zerstört nach Tagen	Pro 1 l Nitritbouillon nach Omelianski wurden in 14 Tagen täglich in Nitrat verwandelt Milligramm $NaNO_2$
A = 25 cm tief gewendet	74,3	2	68
B = 40 cm tief gewendet	70,4	2—3	45

Auch die im Frühjahr 1903 gesetzten Kartoffeln gingen auf dem tief bearbeiteten Teilstück langsamer auf, als auf dem flach gepflügten. Eine erneute bakterielle Prüfung des Bodens fand erst im Jahre 1904 wieder statt. Die Untersuchungsproben wurden dabei stets unmittelbar vor ihrer Verwendung mit dem Fränkelschem Bohrer dem Felde auf 15 cm Tiefe entnommen. Aus dem umfangreichen Beobachtungsmaterial mögen nachfolgend nur die Schlußzahlen folgen:

Tabelle III.

Untersuchungstag	Untersuchungsprobe	Stickstoffsammlung in mg pro 1 g Mannit in Beijerinckscher Mannitlösung nach Tagen			Vom Gesamtstickstoff einer 1-proz. Peptonlösung waren nach 8 Tagen abgebaut Proz.	In Giltay-Lösung war der Salpeter vollständig zerstört nach Tagen	Pro 1 l Nitritbouillon nach Omelianski wurden innerhalb 14 Tagen täglich in Nitrat verwandelt Milligramm $NaNO_2$
		7	14	21			
2. VI. 04	A	3,2	6,3	7,4	67,4	3	43
	B	3,8	4,4	4,6	70,6	3	36
5. VII. 04	A	—	6,4	6,4	70,5	3	36
	B	4,4	4,4	5,4	70,8	3	36
28. VI. 04	A	4,3	6,0	6,4	72,2	3	44
	B	4,4	6,0	6,0	69,6	3	46
5. IX. 04	A	4,2	6,4	6,7	66,9	3	39
	B	4,9	5,7	4,8	66,9	3	43
7. XI. 04	A	4,6	5,6	6,4	73,0	3	29
	B	5,3	6,1	6,1	67,7	3	29

1) Als „abgebaut“ ist der durch gebrannte Magnesia substituierbare Stickstoff der gefaulten Peptonlösungen bezeichnet.

Diese Ergebnisse lassen einen ungünstigen Einfluß tiefwendender Bearbeitung auf die Bodenbakterien nicht sicher mehr erkennen. Die vorhandenen kleinen Unterschiede dürften als Fehler zu betrachten sein. Im vorliegenden Falle war demnach nach $1^1/_2$ Jahren jede Einwirkung der verschiedenen Bearbeitungsweise auf das bakterielle Verhalten des Bodens verschwunden, während die günstige Rückwirkung der Tiefbearbeitung auf die Wasserversorgung der Pflanzen zu dieser Zeit noch anhielt.

Eine zweite Versuchsreihe in Gefäßen führte zu ähnlichen Ergebnissen. Einem stark gemergelten Teilstück des aus leichtem Sand bestehenden Berliner Versuchsfeldes der landwirtschaftlichen Hochschule wurden im Frühjahr 1904 größere Erdmengen einerseits auf 1—25 cm (A), andererseits auf 25—50 cm (B) Tiefe entnommen. Die Proben wurden sofort nach der Entnahme mit nachfolgendem Ergebnis bakteriologisch untersucht:

Tabelle IV.

Untersuchungstag	Untersuchungsprobe	Stickstoffsammlung in mg pro 1 g Mannit in Beijerinckscher Mannitlösung nach Tagen			Vom Gesamtstickstoff einer 1-proz. Pepton-Lösung waren nach 8 Tagen abgebaut Proz.	In Giltay-lösung war der Salpeter vollständig zerstört nach Tagen	Pro 1 l Nitritbouillon nach Omelianski wurden innerhalb 14 Tagen täglich in Nitrat verwandelt Milligramm $NaNO_2$
		7	14	21			
8. Juni 04	A (Ackerkrume)	6,4	6,6	8,0	75,8	3	56
	B (Untergrund)	4,4	6,6	7,4	72,0	3	22

Der Untergrund unterscheidet sich graduell von der Ackerkrume durch unerheblich geringere Stickstoffsammlung in Beijerinckscher Mannitlösung, etwas geringere peptonzersetzende Kraft und wesentlich schwächeres Salpeterbildungsvermögen. Der untersuchte Boden wurde nun zu je 100 kg in eingegrabene, 90 cm tiefe, unten offene Zinkzylinder gebracht, und zwar:

I. in natürlicher Schichtenfolge (die Ackerkrume auf dem Untergrunde),

II. in umgekehrter Schichtenfolge (der Untergrund auf der Ackerkrume),

III. als Mischung von Ackerkrume und Untergrund.

Innerhalb jeder Hauptreihe erhielt die Hälfte der Zylinder (a) neben reichlich bemessener Kali-, Phosphorsäure- und Kalkgrunddüngung je 0,75 g Salpeter- und 0,75 g Ammoniakstickstoff, die andere Hälfte (b) 400 g stark verrotteten Rinderstalldünger. Auf den Aufgang und die Entwickelung der in die Cylinder eingesäten Mohrrüben, deren Wasserbedarf durch Begießen stets vollauf gedeckt wurde, hatte die Schichtungs- und Mischungsweise des Bodens überhaupt keinen sichtbaren Einfluß. Auch die bakteriellen Befunde lassen nach Ausweis der nachfolgenden Tabelle V bereits im Herbste des ersten Versuchsjahres einen bestimmten Einfluß der verschiedenen Behandlungsweise nicht mehr erkennen.

Tabelle V.

Unter-suchungs-probe	Unter-suchungstag	Stickstoffsammlung in mg pro 1 g Mannit in Beijerinckscher Mannitlösung Milligramm nach Tagen 7	14	21	Vom Gesamt-stickstoff einer 1-proz. Peptonlösung waren nach 8 Tagen abgebaut Proz.	In Giltay-Lösung war der Salpeter vollständig zerstört nach Tagen	Pro 1 l Nitritbouillon nach Omelianski wurden innerhalb 14 Tagen täglich in Nitrat verwandelt Milligramm $NaNO_2$
Ia	21. IX. 04	4,1	6,5	7,3	73,4	2—3	53
IIa	4. X. 04	3,5	5,0	5,7	66,8	3	50
IIIa	3. X. 04	5,2	5,9	6,9	74,6	3	32
Ib	21. IX. 04	5,6	7,0	7,6	75,4	2—3	39
IIb	4. X. 04	3,8	5,4	6,0	64,0	3	36
IIIb	2. X. 04	4,4	5,4	5,8	73,5	3	39

Auch in den Erträgen zeigten sich nach Ausweis der Tabelle VI keine sicheren Unterschiede.

Tabelle VI.

Reihe	Schichtung	In Gramm pro Cylinder geerntet: Mohrrüben a	b	Mittel	Mohrrübenlaub	Gesamttrockensubstanz	
Ia	Ackerkrume auf Untergrund	972	859	916	284	179	Mit Salpeter und Ammonsulfat
IIa	Untergrund auf Ackerkrume	1048	884	966	256	173	
IIIa	Ackerkrume und Untergrund gemischt	976	922	945	279	178	
Ib	Ackerkrume auf Untergrund	815	851	833	253	169	Mit Stalldünger
IIb	Untergrund auf Ackerkrume	750	898	824	229	159	
IIIb	Ackerkrume und Untergrund gemischt	825	815	820	273	156	

Also auch in künstlich bewässerten Zylindern, in denen die Wasserversorgung der Pflanzen als ertragsbestimmender Umstand ausgeschieden war, läßt sich ein bakterieller Einfluß von durchgreifend verschiedenen Bodenbehandlungsmaßnahmen nicht sicher feststellen.

Eine dritte Versuchsreihe der Jahre 1903 und 1904 bezog sich auf den bakteriellen Einfluß der Vorfrucht und der Brachbearbeitung. Diesem Versuche diente:

1) Berliner Versuchsfeldboden, ein leichter, sehr tätiger Sand, für den Brachbearbeitung ungefähr wie die Faust aufs Auge paßte.

2) Ein strenger Elbaueboden vom Rittergut Zwethau bei Torgau, der für Brachhaltung recht geeignet war.

Die Böden wurden gesiebt, gemischt und dann recht fest in die beim Vorversuch erwähnten Zinkzylinder eingestampft. Diese standen während der ganzen Versuchsdauer unter freiem Himmel und waren nicht nur der Wirkung von Wind und Wetter, sondern auch der auslaugenden Wirkung des Wassers vollständig preisgegeben. Die Art der Behandlung ergibt

sich aus der nachfolgenden Zusammenstellung VII, welche auch das Ergebnis der im Frühjahr 1904 vorgenommenen bakteriellen Untersuchung enthält:

Tabelle VII.

Untersuchungs-probe	Im Sommer 1903 bestellt mit	Stickstoffsammlung in mg pro 1 g Beijerinckscher Mannitlösung in Milligramm nach Tagen 7	14	21	Vom Gesamtstickstoff einer 1-proz. Peptonlösung waren nach 8 Tagen abgebaut Proz.	In Giltay-Lösung war der Salpeter vollständig zerstört nach Tagen	Pro 1 l Nitritbouillon nach Omelianski wurden innerhalb 14 Tagen täglich in Nitrat verwandelt Milligramm $NaNO_2$
	A. Boden vom Berliner Versuchsfeld.						
I	Brache	5,0	6,8	8,0	78,5	3	54
II	Gerste	4,3	6,8	9,2	80,0	3	50
III	Lupinen (untergebracht)	5,7	8,9	9,1	83,4	3	50
IV	Gerste mit Stoppellupinen (untergebracht)	—	7,2	8,7	74,5	3	50
	B. Boden aus Zwethau bei Torgau.						
I	Brache	2,8	7,3	—	73,5	3	48
II	Gerste	3,8	7,2	—	75,6	3	51
III	Lupinen (untergebracht)	4,5	7,4	—	75,7	3	46
IV	Gerste mit Stoppellupinen (untergebracht)	3,3	6,9	—	77,3	3	44

Zur Bestimmung des Gehalts des Bodens an Salpeterstickstoff wurden am 22. Aug. 1903 den Zylindern Bodenproben auf 0—25 cm entnommen. 2,5 kg Boden wurden in großen Flaschen mit 2500 ccm Wasser übergossen. Unter häufigem Umschütteln blieben diese 48 Stunden lang stehen. Dann wurde 1 l, entsprechend 1 kg Boden abfiltriert. Die Flüssigkeit wurde unter Zusatz von etwas Natronlauge fast bis zum Trocknen eingedampft, mit heißem Wasser aufgenommen, filtriert und zu 100 ccm aufgefüllt. Je 25 ccm hiervon, entsprechend 250 g Boden, dienten zur Salpeterstickstoffbestimmung nach Ulsch. Dabei wurden gefunden:

	Berliner Versuchsfeldboden		Zwethauer Boden	
	a Salpeterstickstoff pro 1 kg Bodentrockensubstanz mg	b Salpeterstickstoff bis auf 25 cm Tiefe pro Hektar kg[1])	a Salpeterstickstoff pro 1 kg Bodentrockensubstanz mg	b Salpeterstickstoff bis auf 25 cm Tiefe pro Hektar kg[2])
Brache	7,7 / 8,4 } 8,1	28,4	16,3 / 21,5 } 18,9	47,3
Gerste	5,1 / 3,5 } 4,3	13,1	3,5 / 4,0 } 3,8	9,5
Lupinen	4,2 / 4,7 } 4,5	15,8	6,0 / 4,6 } 5,3	12,7

1) Volumengewicht = 1,4.
2) Volumengewicht = 1,0.

Auch hier sind die festgestellten Unterschiede im bakteriellen Verhalten der verschieden behandelten Böden recht gering. Der höhere Salpetergehalt in dem gebrachten schweren Boden ist ursächlich wohl mehr auf Nichtverbrauch als auf lebhaftere Salpeterbildung zurückzuführen. Daß die Unterschiede im Salpetergehalt beim Sandboden unter dem Einfluß der Vorfrucht geringere sind, mag auf Ausgleich durch Sickerverluste zurückzuführen sein.

Von den 4 Parallelzylindern jeder Reihe blieben 1903 drei zur weiteren Beobachtung an Ort und Stelle stehen, während der 4. im Herbst 1903 ausgehoben wurde. Sein Inhalt diente nach sorgsamer Mischung zu Vegetationsversuchen, die nach langjähriger Fortführung die Grundlage für eine genaue Stickstoffbilanz der verschieden vorbehandelten Böden abgeben sollten. Infolge unvorhergesehener Abberufung des Berichterstatters in eine andere Dienststellung ist der Versuch jedoch nach einjähriger Dauer abgebrochen. Das immerhin interessante erstjährige Ergebnis möge in Tabelle VIII folgen:

Tabelle VIII. (Gefäßversuche im Vegetationshause.)

Reihe	Sonderbehandlung 1903	Vom Gefäß wurden geerntet in Gramm Trockensubstanz															In der Gefäßernte Stickstoff g
		I. Ernte: Grünroggen 23. Mai 04					II. Ernte: Senf 4. Juli 04					III. Ernte: Senf 26. Aug 04					
		a	b	c	d	Mittel	a	b	c	d	Mittel	a	b	c	d	Mittel	
								A. Boden vom Berliner Versuchsfeld.									
I	Brache	12,8	9,7	16,1	13,9	13,1	7,9	5,8	5,6	6,5	6,5	2,5	2,2	3,1	2,2	2,5	0,428
II	Gerste	11,7	14,0	15,5	11,1	13,1	5,4	6,6	6,0	8,7	6,7	3,2	2,2	3,1	3,2	2,9	0,414
III	Lupinen zur Gründüngung	31,7	38,7	31,3	40,9	35,7	59,7	49,6	54,4	56,0	54,9	7,8	13,1	9,3	10,5	10,2	2,068
IV	Gerste, dann Stoppellupinen zur Gründüngung	10,5	13,0	9,9	12,2	11,4	9,0	7,3	8,7	7,4	8,1	2,8	2,9	4,1	3,6	3,4	0,452
								B. Boden von Zwethau.									
I	Brache	52,1	44,0	58,3	56,0	52,6	15,9	15,9	14,8	17,3	16,0	4,1	3,4	3,3	4,1	3,7	1,524
II	Gerste	27.9	29,2	34,7	29,7	30,4	8,2	7,5	7,9	9,6	8,3	1,7	1,8	3,1	1,6	2,1	0,811
III	Lupinen zur Gründüngung	108,0	82,9	109,5	86,8	96,8	33,8	37,6	31,3	34,7	34,4	10,7	9,2	12,5	10,6	10,8	3,184
IV	Gerste, dann Stoppellupinen zur Gründüngung	32,2	34,2	35,2	29,2	32,7	6,9	8,9	6,9	9,1	8,0	3,6	2,3	2,1	2,3	2,6	0,889

Bemerkungen: Die eingefüllte Erdmenge schwankte in den verschiedenen Reihen zwischen 13,43 und 14,56 kg Trockenboden.

Grunddüngung: 25. Okt. 03: 1,0 g P_2O_5 als Dikaliumphosphat, 1 g K_2O als Chlorkalium und kohlensaures Kali, 2,0 g CaO als Karbonat. 14. Juli 04: 0,25 g P_2O_5 als Monokaliumphosphat, 0,50 g Kali als Chlorkalium.

I. Bestellung mit Roggen am 25. Okt. 03
II. „ „ Senf „ 23. Mai 04
III. „ „ „ „ 4. Juli 04

In beiden Fällen ergibt sich eine schlagende Ueberlegenheit der 1903 mit Gründüngungslupinen bestellt gewesenen Böden. Die Brachwirkung hält sich auch bei Zwethauer Boden in engen Grenzen und ist wohl ganz oder überwiegend auf Nichtverbrauch an Bodenstickstoff im Brachjahr bedingt, während die biologische Nachwirkung der Brache sicher unerheblich ist. Dasselbe bestätigen auch die 1904 in den eingegrabenen Erdzylindern durchgeführten Versuche mit Roggen und Senf. Geerntet wurde dabei an Trockensubstanz vom Zylinder Gramm:

Tabelle IX.

Reihe		In den mit Boden vom Berliner Versuchsfelde gefüllten Gefäßen						In den mit Zwethauer Boden gefüllten Gefäßen					
		Blühender Roggen (Trockensubstanz)				Weißer Senf Trockensubstanz im Mittel	g Stickstoff in beiden Ernten	Blühender Roggen (Trockensubstanz)				Weißer Senf Trockensubstanz im Mittel	g Stickstoff in beiden Ernten
		a	b	c	Mittel			a	b	c	Mittel		
I	Brache	100,6	106,3	140,1	115,7	2,4	1,678	189,9	174,2	204,2	189,4	2,3	2,955
II	Gerste	78,7	99,8	102,6	93,7	1,0	1,321	126,3	127,6	133,4	129,1	0,7	1,820
III	Lupinen zur Gründüngung	199,2	164,6	179,5	181,0	15,5	2,769	271,5	327,9	302,7	300,7	4,8	4,661
IV	Gerste mit Stoppellupinen zur Gründüngung	108,9	104,8	136,3	116,7	3,4	1,739	169,0	186,2	177,2	177,5	1,8	2,893

Die Grunddüngung bestand pro Zylinder aus je 2 g Kali als Chlorkalium und 1,0 g Phosphorsäure als Superphosphat. Wegen der sehr trockenen Sommerwitterung erhielten die Gefäße Wasser nach Bedarf künstlich zugeführt.

Im Gegensatz zur Brache gleichen die Gründüngungslupinen den durch ihren Anbau 1903 entstandenen Ausfall an Erntemasse und Erntestickstoff schon 1904 durch gesteigerte Erträge fast vollständig aus. Für eine verbesserte Stickstoffversorgung der Pflanzen durch Brachehaltung spricht also der Versuchsbeginn durchaus nicht. Doch mag ausdrücklich erwähnt sein, daß, von der kurzen Zeitdauer abgesehen, zwei Umstände die Brachwirkung bei Gefäßversuchen jeder Art nicht voll hervortreten lassen:

1) Zur Gesamtwirkung der Brache gehört auch ihr Einfluß auf die mechanische Struktur und einige von ihr abhängige Umstände, ferner auf das Unkraut und die Nutzbarmachung der mineralischen Bodennährstoffe. Alles das sind Brachwirknngen, welche in Erdzylindern wenig oder gar nicht zur Geltung kommen.

2) Mit dem Einfüllen der Erde in Gefäße ist eine äußerst durchgreifende Lockerung verbunden, welche die Brachewirkung in mancher Beziehung zu ersetzen vermag.

In ihrer Gesamtheit deuten aber die besprochenen Versuche trotz ihrer Unvollständigkeit darauf hin, daß man den Einfluß der Bearbeitung auf das bakterielle Verhalten des Bodens nicht überschätzen darf. Selbst sehr durchgreifende Bearbeitungsmaßnahmen zeigten eine nach Grad und Zeitdauer so begrenzte bakterielle Wirkung auf den Boden, daß die Bestimmung

mit Schwierigkeiten verknüpft war, während sich, wie wir noch sehen werden, gewisse bakterielle Düngerwirkungen mit Hilfe der gewählten Methoden leicht feststellen lassen. Diese Gegenüberstellung des bakteriellen Einflusses einerseits der Bodenbearbeitung, andererseits der Düngung, mag die Mitteilung der obigen Ergebnisse, deren methodische Unzulänglichkeit in keiner Weise verkannt werden soll, rechtfertigen.

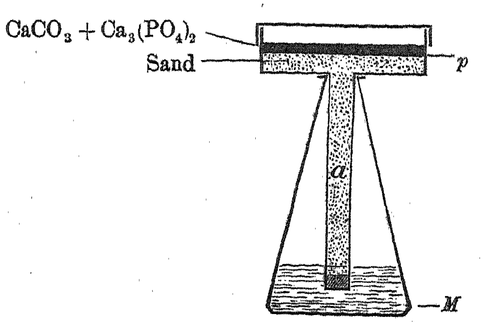
II. Die Versuche in den Jahren 1906/7.

In Bonn-Poppelsdorf, wohin Berichterstatter im Frühjahr 1905 übergesiedelt war, gab zunächst ein von Wohltmann im Versuchsfeld der dortigen Akademie eingerichteter Dauerdüngungsversuch Gelegenheit zu Beobachtungen über den Einfluß des Klimas auf die bakterielle Bodenbeschaffenheit. Schon F. Wohltmann, H. Fischer und Ph. Schneider[1]) hatten mit Hilfe der vom Verf. in dieser Zeitschrift[2]) beschriebenen ursprünglichen Methoden eine deutliche Wirkung der Düngung auf das bakterielle Verhalten des Bodens festzustellen vermocht. Das Nähere über die Beobachtungen der genannten Forscher ergibt sich aus der angezogenen Veröffentlichung. Die Prüfung der Böden auf stickstoffsammelnde Kraft in Beijerinckscher Mannitlösung, die Berichterstatter seiner Untersuchungsmethodik erst später ergänzend angefügt hat, wurde zunächst im Frühjahr 1906 versucht. Das für alle nachfolgenden Untersuchungen benutzte Untersuchungsverfahren unterscheidet sich von dem bereits beschriebenen in wesentlichen Punkten. Da es sich bei sorgsamer Ausführung gut bewährt hat, sei es nachfolgend genau beschrieben:

Eine Schüttelflasche wird mit 250 ccm physiologischer Kochsalzlösung und etwas Glasperlen beschickt, mit Wattebausch verschlossen und sterilisiert. Unter tunlichstem Infektionsausschluß werden dann 50 g des zu untersuchenden Bodens in die Flasche gebracht und 5 Minuten kräftig geschüttelt. Sofort nach Beendigung dieser Arbeit werden von der unfiltrierten Ausschüttelung, nachdem sich die Hauptbodenmasse etwas abgesetzt hat, mit steriler Mensure

a) 10 ccm = 2,0 g Boden in zu 100 ccm portionierte, in Erlenmeyer-Kolben befindliche Beijerincksche Mannitlösung gebracht,

b) 10 ccm = 2,0 g Boden auf in nachstehend beschriebener Weise hergerichtete Petri-Schalen, die in dieser Anordnung zuerst von Dr. Ph. Schneider[3]), dem früheren 1. Institutsassistenten, benutzt sind, gegossen. Die Petri-Schale *p* mit angeschmolzenem Rohr *a* hängt so in einem mit Beijerinckscher Mannitlösung beschickten Erlenmeyer-Kolben, daß der untere Teil des Ansatzrohres in die Beijerinckscher Mannitlösung eintaucht. Das unten durch einen Bausch von Glaswolle geschlossene Ansatzrohr ist mit Sand gefüllt. Letzterer (punktiert)



1) Journ. f. Landwirtsch. 1904. p. 97—126.
2) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1902. No. 21—24.
3) Beschrieben in dessen Arbeit in den Landwirtsch. Jahrb. 1906. Ergänzungsband IV. p. 67.

bedeckt auch den Boden der Petri-Schale. Auf dem Sand liegt dann eine ca. $^1/_2$ cm starke Schicht von 90 Proz. Calciumkarbonat und 10 Proz. Calciumphosphat. Unmittelbar nach dem Aufbringen der Bodenausschüttelung wird die Platte auch von oben her mit 50 ccm Beijerinckscher Mannitlösung getränkt. Durch Vermittlung des Sandes wird den Platten während der ganzen Beobachtungsdauer Beijerincksche Mannitlösung kapillar von unten zugeführt.

c) Vorübergehend wurde in Anlehnung an ein von J. G. Lipman[1]) benutztes Verfahren auch ein Teil des rohen Bodens $^1/_2$ Stunde in strömendem Wasserdampf pasteurisiert, um die nicht sporenbildenden Organismen, zu denen die Azotobacter-Arten gehören, abzutöten. Dann wurde der pasteurisierte Boden in der oben erwähnten Weise ausgeschüttelt. Von der Ausschüttelung wurden je 10 ccm in eine Nährlösung gebracht, die in 100 ccm Leitungswasser 2 g Dextrose und 0,2 g Dikaliumphosphat enthält, um die sporenbildenden Stickstoffsammler für sich zur Entwickelung zu bringen. Zu wichtigen Aufschlüssen hat aber diese Ergänzung nicht geführt, weshalb sie bald wieder aufgegeben ist.

Die geimpften Nährlösungen und Platten stehen bei 25° C im Thermostaten. Nach 2 Wochen werden die mit rohem Boden geimpften Mannitlösungen, nach 3 Wochen die mit pasteurisiertem Boden geimpften Dextroselösungen auf Stickstoff untersucht. Die Platten geben sehr charakteristische Vegetationsbilder. Denn in Böden, welche reich an stickstoffsammelnden Bakterien sind, entwickelt sich auf der weißen Oberfläche ein üppiger Bakterienrasen, der überwiegend aus Azotobacter chroococcum besteht und deshalb alsbald eine tiefbraune Färbung annimmt. Azotobacter-arme Böden zeigen keinen geschlossenen Bakterienrasen, sondern nur inselförmige Kolonieen in größerer oder geringerer Zahl. In extremen Fällen ist auf den Kalkplatten, von vereinzelten gelegentlichen Schimmelkolonieen abgesehen, überhaupt kein Leben wahrzunehmen, so daß die Oberfläche dauernd weiß bleibt. Zur Fixierung der Bildes werden sämtliche Platten in der Regel am 10. Tage nach dem Ansetzen photographiert. Da sich das charakteristische Vegetationsbild längere Zeit nicht merkbar ändert, kann die Frist übrigens auch um einige Tage verlängert werden. Auch durch mikroskopische Durchprüfung des Bakterienrasens ist die Untersuchung in einer Reihe von Versuchen noch zu erweitern versucht. Doch standen die dabei erhaltenen Aufschlüsse in keinem rechten Verhältnis zur aufgewandten Mühe, weshalb später auch von dieser Ergänzung Abstand genommen ist.

Soweit der Boden auf Stickstoff untersucht ist, wurde dabei die Kjeldahl-Jodlbauersche Methode benutzt.

Zur Aziditätsbestimmung des Bodens wurden 10 g lufttrockene Substanz nach Zusatz von 0,25 g gebrannter Magnesia $^1/_2$ Stunde mit $^1/_4$-Normalschwefelsäure gekocht. Dann wurde auf 200 ccm aufgefüllt und filtriert. 100 ccm des Filtrats, entsprechend 5 g Boden, wurden mit $^1/_4$-Normalnatronlauge zurücktitriert. Der Verbrauch abzüglich des Aequivalents für die zugesetzte Magnesia ergibt die Menge der im Boden enthaltenen freien Basen oder Säuren. Beide sind stets als CaO-Aequivalente mit + oder — Vorzeichen berechnet bezw. aufgeführt.

Die erste Untersuchung fand im März und April 1906 statt. Sie beschränkte sich auf die Anlage der oben erwähnten Kalkplatten für die

1) Vgl. Annual Report of the New Jersey State Agr. Exp. Station. 1904.

17 Parzellen des bis dahin unverändert nach dem Plane Wohltmanns fortgesetzten Dauerdüngungsversuchs. Eine genaue Beschreibung desselben findet sich u. a. in der bereits angeführten Arbeit[1]). Hier sei zum Verständnis kurz erwähnt, daß der Versuch damals 10 Feldstreifen umfaßte, die planmäßig nacheinander:

I. Kartoffeln,
II. Mais,
III. Hafer mit Kleeeinsaat,
IV. Klee (ohne jede Düngung),
V. Winterraps,
VI. Winterrogen,
VII. Zuckerrüben,
IX. Erbsen (oder Bohnen),
X. Winterweizen

tragen sollten. Jeder Streifen zerfiel in 17 verschieden gedüngte Beete von 25 qm Größe. Von ihnen blieb nur der Kleestreifen regelmäßig ungedüngt, während sich die Düngung der übrigen Streifen aus der folgenden Uebersicht ergibt:

Beet 1 (Stallmist) erhielt 1895, 1896 und 1897 je 400 dz schwach verrotteten Rindviehmist pro 1 ha, 1898 50 dz. Seit 1899 wurde nur mehr zu Zuckerrüben, Kartoffeln und Winterraps, also in 10 Jahren 3mal mit 400 dz Stallmist pro 1 ha gedüngt.

Beet 2 (ungedüngt) wurde seit 1895 nicht mehr gedüngt.

Beet 3 (Kalk) erhielt 1895, 1896, 1897 jährlich 40 dz, 1898 10 dz Aetzkalk auf 1 ha. Seitdem erhielt nur die Roggenparzelle eine Kalkdüngung von 40 dz pro Hektar.

Beet 4 (Magnesia) erhielt seit 1895 jährlich 400 kg Aetzmagnesia auf 1 ha.

Beet 5 (Phosphat) erhielt seit 1895 jährlich 200 kg Doppelsuperphosphat (40 Proz.) auf 1 ha.

Beet 6 (Kainit) erhielt seit 1895 jährlich 800 kg Kainit auf 1 ha.

Beet 7 (Volldüngung ohne N) erhielt Aetzkalk, Magnesia, Superphosphat und Kainit wie die Beete 3, 4, 5 und 6.

Beet 8 (Kalk und Phosphat) erhielt Aetzkalk und Superphosphat wie die Beete 3 und 5.

Beet 9 (Kalk und Kainit) erhielt Aetzkalk und Kainit wie die Beete 3 und 6.

Beet 10 (Magnesia und Kainit) erhiet Magnesia und Kainit wie die Beete 4 und 6.

Beet 11 (Phosphat und Kainit) erhielt Superphosphat und Kainit wie die Beete 5 und 6.

Beet 12 (Salpeter) erhielt seit 1895 jährlich 300 kg Chilisalpeter auf 1 ha.

Beet 13 (Ammonsulfat) erhielt seit 1895 alljährlich 240 kg schwefelsaures Ammoniak auf 1 ha.

Beet 14 (Volldüngung) erhielt Kalk, Magnesia, Superphosphat, Kainit und Salpeter wie die Beete 3, 4, 5, 6 und 12.

Beet 15 (Kalk und Salpeter) erhielt Kalk und Salpeter wie die Beete 3 und 12.

Beet 16 (Phosphat und Salpeter) erhielt Superphosphat und Salpeter wie die Beete 5 und 12.

---

1) Journal f. Landw. 1904. p. 98—102.

Beet 17 (Kainit und Salpeter) erhielt Kainit und Salpeter wie die Beete 6 und 12.

Die Düngung der Beete ist nachfolgend einfach durch die der Beetnummer in Klammern beigefügten Stichworte gekennzeichnet.

Zur Untersuchung wurde der 1906 für die Bestellung mit Erbsen in Aussicht genommene Feldstreifen benutzt, nachdem er die Düngung nach Maßgabe des Versuchsplanes erhalten hatte. Die Bodenproben wurden im März und April 1906 mit dem Fränkelschen Bohrer auf 1—15 cm Tiefe entnommen und nach sorgsamer Mischung sofort untersucht. Das Aussehen der mit den verschiedenen Böden geimpften Kalkplatten nach 10-tägigem Stehen bei 25° C wird durch die Taf. I—III veranschaulicht.

Eine durchgreifende Förderung der Azotobacter-Entwickelung durch die Kalk- und Magnesiadüngung ist in allen Fällen unverkennbar. Wo Kalk, Magnesia oder beide zusammen zugeführt sind, zeigen die mit Bodenausschüttelungen übergossenen Kalkplatten einen geschlossenen dunkelbraunen Azotobacter-Rasen, während auf den übrigen Platten keine Spur eines solchen hervortritt. Auch der Stallmist hat auf die Azotobacter-Entwickelung keinen förderlichen Einfluß ausgeübt. Unterschiede in der Wirkung des Kalkes und der Magnesia sind hier nicht zu erkennen. Bei späteren Beobachtungen trat gelegentlich ein Unterschied zugunsten des Kalkes hervor. Doch erklärt sich die Verschiedenheit vielleicht dadurch, daß zur Düngung bis 1906 keine äquivalenten Kalk- und Magnesiamengen verwendet wurden. Es betrug nämlich:

a) die Magnesiagabe von 1895—1906 einschließlich 12 × 400 = 4800 kg, entsprechend 66—67 dz CaO-Wert pro Hektar,

b) die Kalkgabe 1894—1896 je 40 dz, 1898 10 dz und 1903 40 dz, zusammen demnach 170 dz CaO.

Beachtenswert ist die Tatsache, daß Azotobacter-freie mit Azotobacter-reichen Parzellen in bunter Reihe abwechseln, ein Beweis dafür, wie ausschließlich das Bodenklima der für die Azotobacter-Verbreitung maßgebende Umstand ist, während die bei der Bearbeitung unvermeidliche Uebertragung der Bakterien von Beet zu Beet an sich niemals eine Azotobacter-Ansiedlung hervorgerufen hat.

Vom Jahre 1906 ab wurde der Plan für den obigen Dauerdüngungsversuch wesentlich abgeändert. Zunächst wurde wegen der Kleinheit der bisherigen Beete die Zahl der Feldstreifen durch Vereinigung von je 2 auf 5 vermindert, die jetzt nacheinander:

I. Getreide (meist Hafer),
II. Kartoffeln,
III. Hülsenfrüchte,
IV. Wintergetreide (meist Weizen),
V. Rüben

tragen sollen. Ferner wurden äquivalente Kalk- und Magnesiamengen vorgesehen. Die Zahl der verschieden gedüngten Beete innerhalb jedes Streifens belief sich vor wie nach auf 17. Die Art der Düngung blieb aber nur bei den Beeten 1—7, 12, 13 und 14 unverändert. Bei den übrigen Parzellen fanden zwecks systematischer Ausgestaltung des Versuchs nach einer überleitenden Zwischendüngung durchgreifende Aenderungen statt, welche die Vergleichbarkeit der betroffenen Beete für eine längere Uebergangsfrist ausschließen. Deshalb wurden zu den nachfolgenden Untersuchungen nur die ersterwähnten, wenigstens qualitativ

unverändert weiter gedüngten Parzellen herangezogen. Der neue Düngungsplan für diese ergibt sich aus der nachfolgenden Aufstellung:

Tabelle X.

No. des Beetes	Düngungszeichen	Düngung für 1 ha: Hafer	Kartoffeln	Hülsenfrüchte	Weizen	Rüben
1	Stallmist	—	200 dz Stalldünger, 60 kg P_2O_5 als Superphosphat, 120 kg K_2O als Kainit	—	—	300 dz Stalldünger, 60 kg P_2O_5 als Superphosphat, 120 kg K_2O als 40-proz. Salz
2	Ohne	—	—	—	—	—
3	Kalk	—	—	2500 kg CaO als Aetzkalk	—	—
4	Magnesia	360 kg MgO [1]	360 kg MgO [1]	360 kg MgO [1]	360 kg MgO [1]	360 kg MgO [1]
5	Phosphat	60 kg P_2O_5 [2]	60 kg P_2O_5 [2]	60 kg P_2O_5 [1]	60 kg P_2O_5 [2]	60 kg P_2O_5 [2]
6	Kali	120 kg Kali als Kainit	120 kg Kali als Kainit	120 kg Kali als Kainit	120 kg Kali als Kainit	120 kg Kali als 40-proz. Düngesalz
7	Volldüngung ohne Stickstoff	Kalk, Magnesia, Kalidünger und Superphosphat wie die Beete 3, 4, 5 und 6				
12	Salpeter	30 kg Stickstoff als Salpeter	30 kg Stickstoff als Salpeter	—	30 kg Stickstoff als Salpeter	60 kg Stickstoff als Salpeter
13	Ammonsulfat	30 kg Stickstoff als schwefels. Ammoniak	30 kg Stickstoff als schwefels. Ammoniak	—	30 kg Stickstoff als schwefels. Ammoniak	60 kg Stickstoff als schwefels. Ammoniak
14	Volldüngung	Mineralische Volldüngung, bestehend aus Kalk, Magnesia, Superphosphat und Kalisalz wie die Beete 3, 4, 5 6 und 12				

1) Als gebrannte Magnesia. 2) Als Superphosphat.

Die Entnahme der zur 2. Untersuchung bestimmten Proben geschah wie bei der 1. Untersuchung auf Streifen III vor der Bestellung mit Erbsen. Es folgen die zahlenmäßigen Ergebnisse der Prüfung in Tabelle XI p. 575.

Das Aussehen der Kalkplatten am 10. Tage nach dem Ansetzen zeigen die Taf. IV und V (obere Reihe).

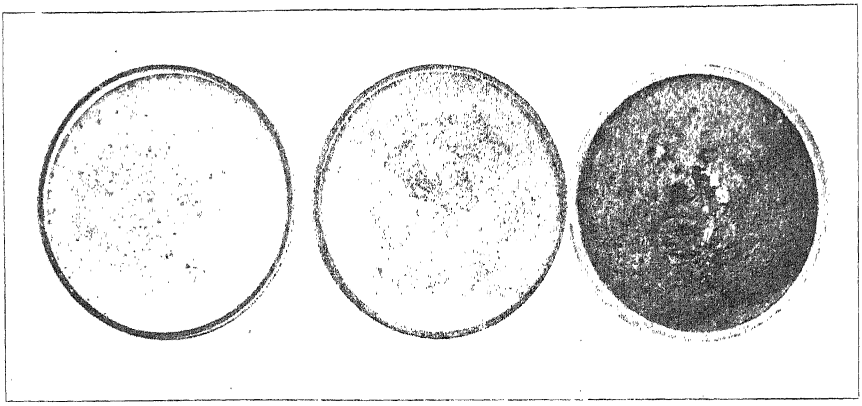
Zunächst bestätigt die Tafel IV grundsätzlich durchaus den in den Taf. I—III niedergelegten Befund der 1. Untersuchung, bei der Azotobacter-Bakterien überhaupt nur auf den mit Kalk oder Magnesia gedüngten Parzellen gefunden wurden. Zwischen der Azotobacter-Entwickelung auf der Kalkplatte und der Stickstoffsammlung in Beijerinckscher Mannitlösung besteht nach Ausweis der Tab. XI ein unverkennbarer Parallelismus. Die in dieser Tabelle aufgeführten Stickstoffmengen für 1 g Mannit sind zur Bestimmung der Stickstoffsammlung zu kürzen:

a) um die in der blinden Lösung enthaltene Stickstoffmenge, die zu 0,4 mg für 100 ccm Mannitlösung bestimmt ist,

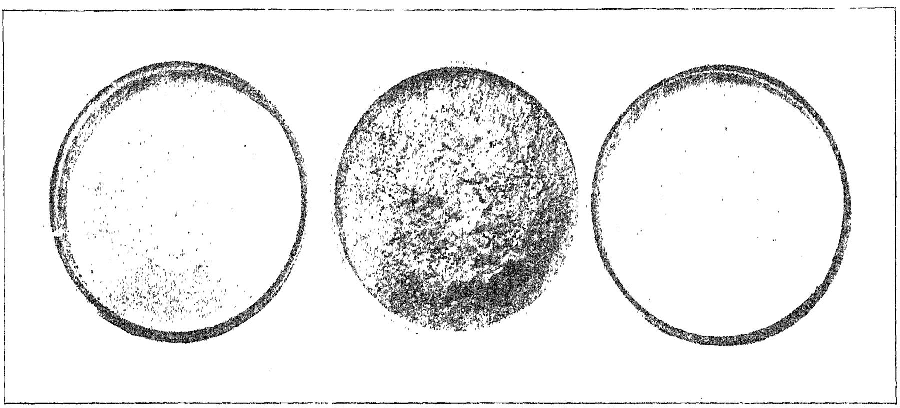
b) um die in der Bodenausschüttelung enthaltene Stickstoffmenge.

Remy, *Unters. üb. d. Stickstoffsammlungsvorgänge in ihrer Beziehung zum Bodenklima.*

Erläuterung zu Tafel I—IV: Die unter den Kalkplattenbildern stehenden Ziffern geben die Beetnummer, die daneben stehenden Wörter die Düngung des zur Impfung benutzten Bodens in den Jahren 1895—1905 an.



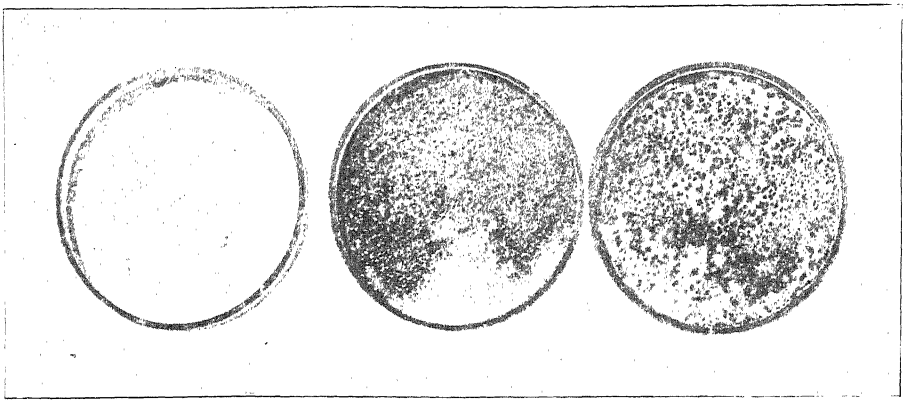
N III 1. Stallmist. N III 2. Ungedüngt. N III 3. Kalk.



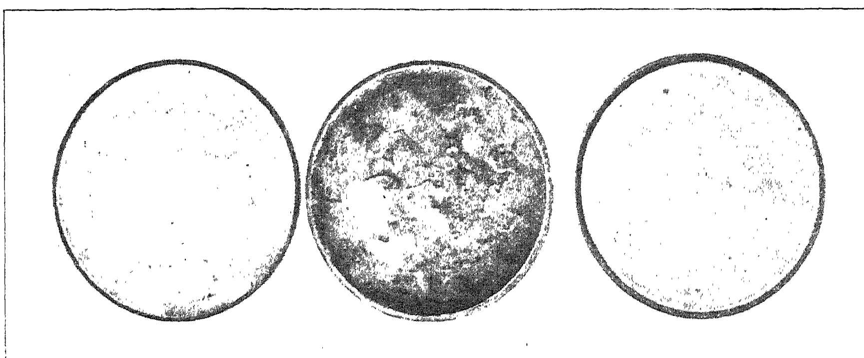
N III 1. Stallmist. N III 4. Magnesia. N III 5. Phosphat.



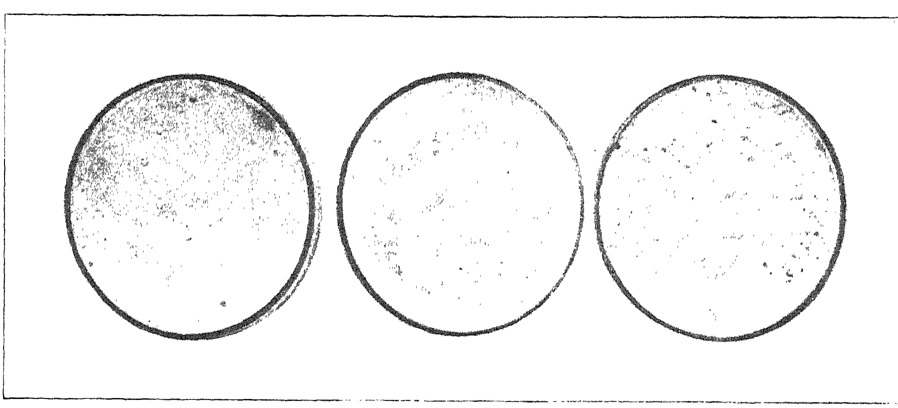
N III 2. Ungedüngt. N III 6. Kainit. N III 7. Volld. ohne N.



N III 2. Ungedüngt. N III 8. Kalk + Phosphat. N III 9. Kalk + Kainit.



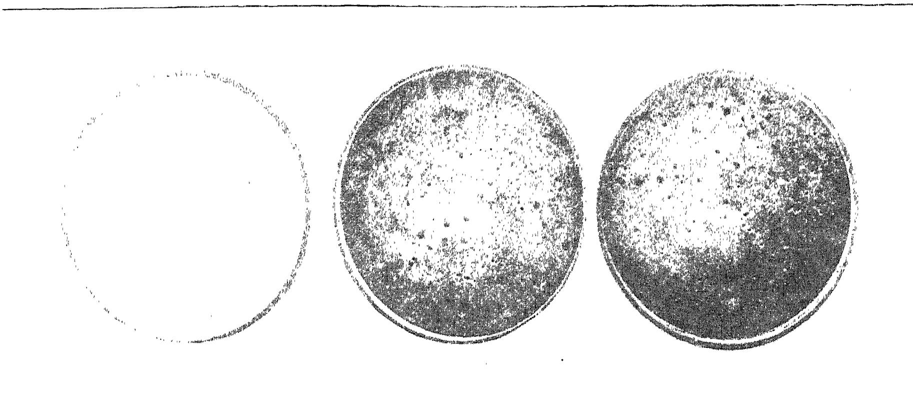
N III 2. Ungedüngt. N III 10. Magnesia + Kainit. N III 11. Phosphat + Kainit.



N III 2. Ungedüngt. N III 12. Salpeter. N III 13. Ammonsulfat.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Remy, Unters. üb. d. Stickstoffsammlungsvorgänge in ihrer Beziehung zum Bodenklima.

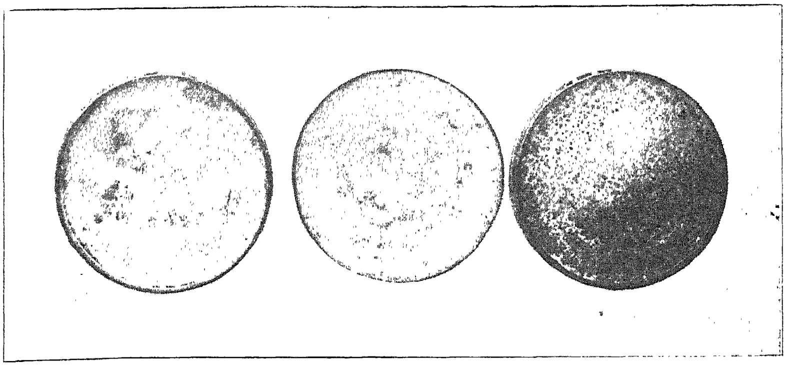


N III 2. Ungedüngt. N III 14. Volldüngung. N III 15. Kalk + Salpeter.

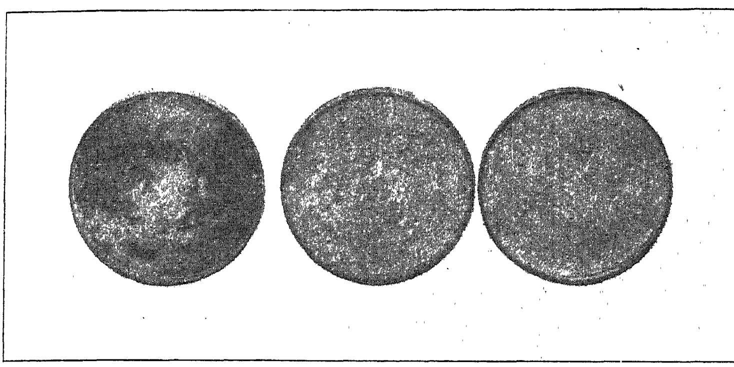


N III 2. Ungedüngt. N III 16. Phosphat + Salpeter. N III 17. Kainit + Salpeter.

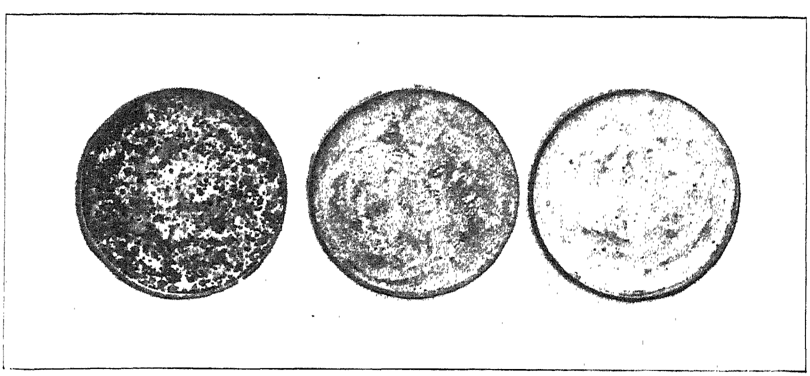
Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena**.



N III 1. Stallmist. N III 2. Ungedüngt. N III 3. Kalk.



N III 4. Magnesia. N III 5. Phosphat. N III 6. Kali.



N III 7. Volldüngung ohne Stickstoff. N III 12. Salpeter. N III 13. Ammonsulfat.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Tabelle XI.

Beet	Düngung	Stickstoff auf 1 g Mannit in Beijerinckscher Mannitlösung mg					Stickstoffgewinn auf 1 g Dextrose in der mit pasteurisiertem Boden geimpften Dextroselösung mg			Aussehen der Mannitrohkulturen		Im untersuchten Trockenboden %			Ertrag im Jahre 1907 für 1 a kg				
		a	b	c	d	Mittel	a	b	Mittel	Makroskopisch	Mikroskopisch	Stickstoff	Kalkwert[1]	in kochender Salzsäure löslicher Kalk	III 3 Viktoriaerbsen[2]	III 4 Roggen[2]	III 5 Zuckerrüben (rein)[3]	III 1 Hafer[2]	III 2 Kartoffeln[3]
III 1	Stallmist	3,4	2,7	4,9	4,6	3,9	2,3	1,6	2,0	Keine Haut. Starke Gasentwickelung	Azotobacter-frei	0,112	0,30	0,30	56	96	293	95	240
III 2	Ohne	2,1	2,7	3,8	3,7	3,1	1,6	1,9	1,8	desgl.	desgl.	0,106	0,30	0,34	40	90	90	64	96
III 3	Kalk	7,2	6,8	7,5	7,0	7,1	1,5	1,2	1,4	Typische Azotobacter-Haut. Wenig Gasentwickelung	massenhaft Azotobacter	0,072	0,58	0,58	32	96	225	69	64
III 4	Magnesia	3,8	7,9	3,8	3,5	4,8	1,8	1,7	1,8	Schleimige, grauweiße Haut. Wenig Gasentwickelung	neben Azotobacter auch viel Schimmel	0,086	0,35	0,21	40	88	204	74	70
III 5	Phosphorsäure	2,0	2,0	3,4	3,9	2,8	2,3	2,5	2,4	wie III 1	wie III 1	0,085	0,29	0,21	44	90	69	62	110
III 6	Kali	2,5	1,6	3,8	3,3	2,8	1,6	1,3	1,5	wie III 1	wie III 1	0,079	0,28	0,28	40	70	153	89	168
III 7	Volldüngung ohne Stickstoff	8,7	8,4	8,9	9,4	8,9	1,8	1,0	1,4	Wie III 3	wie III 3	0,086	0,62	0,67	70	94	316	88	170
III 12	Salpeter	3,1	2,5	4,1	3,7	3,4	1,7	1,5	1,6	wie III 1	wie III 1	0,104	0,35	0,37	36	66	131	88	114
III 13	Ammonsulfat	2,2	2,1	3,6	2,7	2,7	1,9	1,6	1,8	wie III 1	wie III 1	0,104	0,31	0,37	39	94	66	84	110
III 14	Volldüngung	7,2	9,2	7,5	8,5	8,1	1,4	1,2	1,3	wie III 3	wie III 3	0,100	0,74	0,72	64	104	440	114	192
Blinde Lösung		0,4	0,4	0,3	0,3	0,4	0,4	0,4	0,4										

1) Aus der Alkalität berechnet. 2) Körner und Stroh. 3) Rüben bezw. Knollen.

Diese letztere ist nicht von Fall zu Fall bestimmt worden, dürfte aber nach den orientierenden Bestimmungen und auf Grund aprioristischer Erwägungen einen unbedeutenden und zu vernachlässigenden Wert darstellen. Denn die 2 g Boden, deren Ausschüttelung zum Impfen der Mannitlösung dient, enthalten etwa 2 mg Gesamtstickstoff. Davon werden im gelösten oder suspendierten Zustand etwa 10 Proz. = 0,2 mg mit dem Impfmittel auf die Kalkplatte oder in die Beijerincksche Mannitlösung überführt. Insgesamt wird die in 100 ccm der letzteren gefundene Stickstoffmenge demnach um ca. 0,5 mg zu kürzen sein, wenn der Stickstoffgewinn gefunden werden soll.

An der Stickstoffsammlung vermögen nun aber verschiedene Organismen Anteil zu nehmen. Durch Impfung von Dextrose-Kaliphosphatlösung mit pasteurisiertem Boden in der auf p. 570 und 571 beschriebenen Weise ist eine rohe Trennung einerseits der durch sporenbildende, andererseits der durch sporenfreie Stickstoffsammler vermittelten Stickstoffsammlung versucht worden. Eine langsame Bakterienentwickelung stellte sich in den mit pasteurisiertem Boden geimpften Dextrose-Kaliphosphatlösungen ausnahmslos ein. Die mikroskopische Durchprüfung nach 3 Wochen ergab auch regelmäßig das Vorhandensein von Bakterien, unter denen Azotobacter ganz fehlte, während Clostridien und Plectridien regelmäßig vertreten waren. Auch ein kleiner Stickstoffgewinn war stets zu verzeichnen. Doch war derselbe geringfügig, wenn man von der gefundenen Gesamtmenge an Stickstoff die in der blinden Lösung und im Impfmaterial enthaltenen Mengen mit rund 0,5 mg abzieht. Die folgende Zusammenstellung mag das Gesagte veranschaulichen:

Beet	Düngung	I. Auf 1 g Mannit in mit rohem Boden geimpfter Beijerinckscher Mannitlösung gesammelte Stickstoffmenge[1]) mg	II. Auf 1 g Dextrose in mit pasteurisiertem Boden geimpfter Dextrose-Kaliphosphatlösung gesammelte Stickstoffmenge[1]) mg	III. Differenz zwischen I u. II mg
III 1	Stallmist	3,4	1,5	1,9
III 2	Ohne	2,5	1,3	1,2
III 3	Kalk	6,6	0,9	5,7
III 4	Magnesia	4,3	1,3	3,0
III 5	Phosphorsäure	2,3	1,9	0,4
III 6	Kali	2,3	1,0	1,3
III 7	Volldüngung ohne Stickstoff	8,4	0,9	7,5
III 12	Salpeter	2,9	1,1	1,8
III 13	Ammonsulfat	2,2	1,3	0,9
III 14	Volldüngung	7,6	0,8	6,8

Die unter III aufgeführte Differenz zwischen I und II ist wohl ein Ausdruck für die Tätigkeit der sporenfreien Bakterien, unter welchen die Azotobacter-Arten nach Ausweis der mikroskopischen Prüfung und des Vegetationsbildes auf der Kalkplatte die führende Rolle übernehmen. Es zeigt sich, daß die Bedeutung der Sporenbildner bei der Stickstoffsammlung unter den gewählten Versuchsbedingungen voll-

1) Nach Abzug von je 0,5 mg für blinde Lösung und Impfmaterial.

ständig zurücktritt. Allerdings könnte das seine Ursache auch darin haben, daß die Beijerincksche Mannitlösung ihre Energiequelle in einer den Azotobacter-Arten besonders zusagenden, aber ziemlich exklusiven Form enthält. Daß das aber nicht der für die geringe Stickstoffsammlung bestimmter Parzellen maßgebende Umstand ist, ergibt sich aus einer anderen Versuchsreihe, bei der unter übrigens gleichen Vorbedingungen Lösungen verwendet wurden, welche an Stelle von Mannit ein Gemenge von 50 Proz. Mannit und 50 Proz. Dextrose enthielten. Nach Abzug von 0,5 mg Stickstoff für die blinde Lösung und das Impfmaterial stellte sich hierbei der Stickstoffgewinn für 1 g Energiequelle:

Bei	III 1	auf	1,8 mg
„	III 2	„	3,5 „
„	III 3	„	7,9 „
„	III 4	„	5,9 „
„	III 7	„	10,3 „

Unter den gewählten Versuchsbedingungen ist also den beim Pasteurisieren abgetöteten sporenfreien Organismen die nachgewiesene Stickstoffsammlung in erster Linie zu verdanken. Die Sporenbildner mögen mitwirken, aber ihren Leistungen nach treten sie jedenfalls stark zurück. Deshalb ist nachfolgend die gesonderte Untersuchung des pasteurisierten Bodens wieder aufgegeben. Die Anwesenheit einer gewissen Menge von Kalk oder Magnesia ist also nach den bisherigen Beobachtungen die unerläßliche Voraussetzung für eine Anhäufung der als Stickstoffsammler besonders wichtigen Azotobacter-Arten. Die Fragen, ob Kalk, Magnesia und andere Basen sich dabei gegenseitig vertreten können und inwieweit die Azotobacter-Entwickelung an einen bestimmten Mindestgehalt des Bodens an Kalk oder Basen geknüpft ist, werden durch die nachfolgenden Versuche noch vielfach berührt und sollen deshalb einer zusammenfassenden Besprechung vorbehalten bleiben. Auch die Beziehungen zwischen dem Stickstoffreichtum, der Fruchtbarkeit und der nach der Methode des Berichterstatters ermittelten stickstoffsammelnden Kraft mögen weiter unten im Zusammenhang erörtert werden, da erst die nachfolgenden Versuche eine breitere Grundlage für die Klärung liefern. Hier sei zu den in Tabelle XI für 1907 mitgeteilten Ernten auf den zur Untersuchung benutzten Beeten festgestellt, daß die Ertragsüberlegenheit der mit Kalk und Magnesia gedüngten Beete, die besonders dort in die Erscheinung tritt, wo es nicht an den erforderlichen Beigaben der übrigen Nährstoffe gefehlt hat, zu einem guten Teil in der besseren mechanischen Beschaffenheit des Bodens begründet ist. Die diesbezüglichen Unterschiede sind geradezu auffällig. Dunkle Farbe, Lockerheit, schnelleres Austrocknen in feuchten und längeres Feuchtbleiben in trockenen Perioden, leichte Bearbeitungsfähigkeit, kurz alle typischen Kennzeichen der Gare, zeichnen die mit Kalk und Magnesia gedüngten Beete so vor allen übrigen aus, daß die Unterschiede schon auf weite Entfernungen hin wahrnehmbar sind. Dieser Umstand könnte die Erwägung nahe legen, ob Kalk und Magnesia vielleicht nur indirekt die starke Azotobacter-Entwickelung veranlassen, während die durch diese Dungstoffe beförderte Bodengare die unmittelbare Veranlassung zu der vorteilhaften biologischen Aenderung des Bodens ist. Die Vermutung, daß Azotobacter ein spezifisches Leitbakterium für gare Böden ist, hat sich aber durch unter diesem Gesichtspunkte angestellte Ermittelungen nicht bestätigt. Schon der Befund auf dem mit Ammonsulfat gedüngten Beet III 13 der Tab. XII spricht dagegen.

Denn wiewohl im Gegensatz zu allen übrigen, weder mit Kalk noch mit Magnesia gedüngten Versuchsbeeten die mechanische Struktur des Ammoniakbeetes eine recht befriedigende ist, fehlt Azotobacter hier vollständig. Dann war auf einem anderen Teilstück des Versuchsfeldes vor Jahren ein Versuch mit steigenden Kochsalzgaben durchgeführt. Noch in den ersten Jahren nach der Uebernahme des Feldes durch den Berichterstatter fielen die mit größeren Kochsalzgaben gedüngten Beete trotz wiederholter starker Kalkung durch ihre ungünstige mechanische Beschaffenheit und den Mangel jeder Gare auf. Im Sommer 1906 wurden nun Proben einerseits von diesen Kochsalzbeeten, andererseits von den durch schöne Gare am meisten ausgezeichneten sonstigen Stellen des gleichen Teilstücks entnommen und bakteriologisch untersucht. Ein Unterschied trat nicht hervor. Bei beiden Proben zeigte sich auf den Kalkplatten ein geschlossener Azotobacter-Rasen und in Beijerinckscher Mannitlösung eine durchaus normale Stickstoffsammlung.

III. Laboratoriumsuntersuchungen in den Jahren 1907 und 1908.

Den besten Maßstab für die Stickstoffsammlung geben an sich ja die Schwankungen im Stickstoffgehalte des Bodens selbst. Trotzdem ist bei den bis jetzt besprochenen Versuchen von ihrer Bestimmung abgesehen, weil bei der Ausführung neben der Schwierigkeit, allerlei schwer kontrollierbare Gewinn- und Verlustquellen auszuschließen, auch die Größe des Bestimmungsfehlers hindernd im Wege steht. Besonders die Untersuchungen von R. Thiele[1]), sowie von Th. Pfeiffer[2]) und seinen Mitarbeitern haben gezeigt, daß die Fehler sogar ansehnliche Bewegungen im Stickstoffkapital der Böden der Feststellung entziehen, kleinere aber praktisch noch sehr ins Gewicht fallende Stickstoffmengen jedoch vollständig verdecken können. Begründet ist dieser große methodische Fehler bei der Stickstoffbestimmung des Bodens vor allen Dingen in der Schwierigkeit, ausgedehnten Ackerflächen zutreffende Durchschnittsproben zu entnehmen. Daraus ergibt sich die Notwendigkeit, zum Studium der zwischen Bodenklima und Stickstoffsammlung bestehenden Gesetzmäßigkeiten zunächst Versuche mit so geringen Erdmengen heranzuziehen, daß die Fehlerklippe der Probenahme umgangen wird. Die zunächst beschriebenen Versuche sind dementsprechend in mit höchstens 1000 g Ackererde beschickten großen Schalen durchgeführt.

Versuch 1.

Zum Versuch wurden Petri-Schalen verwendet, welche in der auf p. 570 beschriebenen Weise hergerichtet waren. Nur wurden Schale und Ansatzrohr statt mit Sand und Kalk mit bestimmten Gewichtsmengen des der Untersuchung dienenden Bodens beschickt. Als solcher fand ein leichter, humus- und stickstoffarmer Sand des Rheintals Verwendung, dessen bakterielle Untersuchung vollständiges Fehlen von Azotobacter und abnorm geringe Fäulniskraft ergeben hatte. Durch welche Mittel können in einem derartigen Boden die stickstoffsammelnden Kleinlebewesen und besonders die Azotobacter-Arten zu einer möglichst ausgiebigen Entwickelung und Tätigkeit gebracht werden? lautete die durch die nachfolgenden Versuche in erster Linie zu beantwortende Frage. Zunächst

1) Mitteil. d. Landwirtschaftl. Instituts d. Univ. Breslau. Bd. III. p. 157.
2) Desgl. Bd. III. p. 899 ff.

war es natürlich nötig, dem sterilen Boden eine gewisse Anzahl stickstoffsammelnder Bakterien zuzuführen, da in geschlossenen und gegen grobe Infektionen geschützten Petri-Schalen eine spontane Ansiedlung vom Zufall abhängt. Deshalb wurde unter Rheintalsand beim Versuchsbeginn mit 2 Proz. Impferde vom Versuchsfeldbeet N III 7, welches nach Ausweis der Tab. XI und der Taf. IV reich an Stickstoffsammlern war, vermischt. Ueber die chemische und biologische Beschaffenheit der benutzten 2 Böden und des aus ihnen hergestellten Mischbodens geben die nachfolgenden Zahlen Aufschluß.

Eigenschaft	I Rheintalsand	II Versuchsfeldlehm von No. III 7 (Impfboden)	III Der aus I und II hergestellte, zum Versuch benutzte Mischboden
1) Alkalität (+) bezw. Azidität (—) in CaO-Aequivalent für Trockenboden Proz.	— 0,029	+ 0,358	— 0,025
2) Gesamtstickstoff im Trockenboden Proz.	0,0124	0,0920	0,0124
3) Wasserkapazität nach Wahnschaffe Proz.	30,9	37,8	30,9
4) In der durch das 2 mm-Sieb gegangenen Feinerde Proz.:			
a) Perlsand von 1—2 mm Durchmesser	—	—	1,6
b) Grobsand von 0,5—1 mm Durchmesser	—	—	5,6
c) Feinsand von weniger als 0,5 mm Durchmesser	—	—	80,6
d) Abschlämmbare Teile	—	—	12,2
5) Stickstoffsammlung pro 1 g Mannit in mit rohem Boden geimpfter Beijerinckscher Mannitlösung mg	1,9	8,4	—
6) Stickstoffsammlung pro 1 g Dextrose in mit pasteurisiertem Boden geimpfter Dextrose-Kaliphosphatlösung mg	0,5	1,7	—
7) Aussehen der beim Versuchsbeginn mit rohem Boden geimpften Kalkplatten nach 10 Tagen	Ohne sichtbare Bakterien-Entwickelung	Dichter Azotobacter-Rasen	Inselförmige Bakterienkolonieen in mäßiger Zahl (ca. 20)

Von dem Mischboden wurden am 2. September 1907 400 g Trockenerde in die Petri-Schalen gefüllt. Da nach allen vorliegenden Erfahrungen der Zusatz einer passenden Kraftquelle für eine ausgiebige Betätigung der stickstoffsammelnden Kleinlebewesen im Boden die unerläßlichste Voraussetzung ist, wurde, soweit nichts anderes bemerkt ist, der Schaleninhalt bis zum 14. November alle 2 Tage von oben her mit je 10 ccm Beijerinckscher Mannitlösung angefeuchtet. Insgesamt erhielt jede Schale dadurch 380 ccm Lösung mit 7,6 g Mannit (= rund 1,9 Proz. des Trockenbodens) und 0,78 g, entsprechend 0,19 Proz. der Trockenerde an Dikaliumphosphat.

Der Versuch begann am 2. September und dauerte zwischen 74 und 100 Tagen. Die Einzelnachweise über die Dauer sind in Tab. XII. zu finden. Während des ganzen Versuches standen die Schalen bei schwachem, diffusem Licht und bei einer Temperatur von ungefähr

Tabelle
Versuch 1.

Reihe No.	Einzelversuch No.	Sonderbehandlung	Versuchsdauer in Tagen	Stickstoffeinfuhr in mg pro Schale [2])				Am Schlusse des Ver-dener Stickstoff in mg	
				in 400 g Trockenboden	in 380 ccm Mannitlösung	in 10 g Rinderkot	Zusammen	im Boden	in 2000 ccm Wasser I
I	1	Keine [1])	74	52,6	2,1	—	54,7 ±1,1	58,5 ±1,0	1,9 ±0,5
	2		93	52,6	2,1	—	54,7 ±1,1	88,0 ±1,0	3,8 ±0,5
II	3	Mit $CaCO_3$ neutralisiert [1])	74	52,6	2,1	—	54,7 ±1,1	102,4 ±1,0	5,3 ±0,5
	4		100	52,6	2,1	—	54,7 ±1,1	85,7 ±1,0	6,7 ±0,5
III	5	Mit MgO neutralisiert [1])	74	52,6	2,1	—	54,7 ±1,1	51,2 ±1,0	4,8 ±0,5
	6		93	52,6	2,1	—	54,7 ±1,1	100,5 ±1,0	6,2 ±0,5
IV	7	Mit K_2CO_3 neutralisiert [1])	74	52,6	2,1	—	54,7 ±1,1	103,1 ±1,0	2,9 ±0,5
	8		100	52,6	2,1	—	54,7 ±1,1	85,8 ±1,0	7,2 ±0,5
V	9	Mit Na_2CO_3 neutralisiert [1])	74	52,6	2,1	—	54,7 ±1,1	64,2 ±1,0	7,2 ±0,5
	10		100	52,6	2,1	—	54,7 ±1,1	63,8 ±1,0	4,8 ±0,5
VI	11	+ 0,5 Proz. CaO-Wert durch $CaCO_3$ [1])	74	52,6	2,1	—	54,7 ±1,1	72,3 ±1,0	7,6 ±0,5
	12		100	52,6	2,1	—	54,7 ±1,1	61,8 ±1,0	0 ±0,5
VII	13	+ 0,5 Proz. CaO-Wert durch MgO [1])	74	52,6	2,1	—	54,7 ±1,1	52,3 ±1,0	4,8 ±0,5
	14		93	52,6	2,1	—	54,7 ±1,1	58,1 ±1,0	0 ±0,5
VIII	15	+ 0,5 Proz. CaO-Wert durch K_2CO_3 [1])	74	52,6	2,1	—	54,7 ±1,1	52,1 ±1,0	10,0 ±0,5
	16		96	52,6	2,1	—	54,7 ±1,1	50,7 ±1,0	8,6 ±0,5
IX	17	+ 0,5 Proz. CaO-Wert durch Na_2CO_3 [1])	74	52,6	2,1	—	54,7 ±1,1	51,0 ±1,0	11,5 ±0,5
	18		96	52,6	2,1	—	54,7 ±1,1	51,1 ±1,0	12,0 ±0,5
X	19	10 g Rinderkot [1])	74	52,6	2,1	35,1 ±0,1	89,8 ±1,2	78,1 ±1,0	6,2 ±0,5
	20		93	52,6	2,1	35,1 ±0,1	89,8 ±1,2	114,7 ±1,0	5,3 ±0,5

XII.
Reihen I—XV.

suchs vorhanden pro Schale[3])		Stickstoffgewinn (+) oder Verlust (—) pro Schale	Stickstoffgewinn in mg			Alkalität (+) oder Azidität (—) in CaO-Aequivalent für Trockenboden am Schlusse des Versuches	Aussehen der mit Bodenausschüttelung übergossenen Kalkplatten am 10. Tage nach dem Ansetzen
in 2000 ccm Wasser II	Zusammen	mg	für 1 kg Bodentrockensubstanz	für 1 g Mannit im Boden	für 1 g Mannit in Beijerinckscher Lösung	Proz.	
—	60,4	+ 5,7 ±1,56	13,1 ±3,9	0,7	—	± 0	—
2,9 ±0,4	94,7	+ 40,0 ±1,61	99,8 ±4,0	5,3	5,3	Spur +	Geschlossener, grauer Azotobacter-Rasen mit etwas Schimmel
—	107,7	+ 53,0 ±1,56	132,4 ±3,9	7,0	6,4	Spur +	Starker, geschlossener, schwarzbrauner Azotobacter-Rasen
0,5 ±0,4	92,9	+ 38,2 ±1,61	95,1 ±4,0	5,0	6,3	Spur +	Desgl.
—	56,0	+ 1,3 ±1,56	3,4 ±3,9	0,2	2,2	Spur +	Keine sichtbare Bakterienentwickelung
1,9 ±0,4	108,6	+ 53,9 ±1,61	133,7 ±4,0	7,1	8,1	+ 0,050	Geschlossener, grauer Azotobacter-Rasen mit etwas Schimmel
—	106,0	+ 51,3 ±1,56	126,9 ±3,9	6,8	7,8	Spur +	Starker, geschlossener, schwarzbrauner Azotobacter-Rasen
1,4 ±0,4	94,4	+ 39,7 ±1,61	99,0 ±4,0	5,3	6,7	Spur +	Geschlossener, grauer Azotobacter-Rasen mit etwas Schimmel
—	71,4	+ 16,7 ±1,56	41,5 ±3,9	2,2	—	Spur +	—
2,9 ±0,4	71,5	+ 16,8 ±1,61	42,1 ±4,0	2,2	6,7	Spur +	Geschlossener, grauer Azotobacter-Rasen mit etwas Schimmel
—	79,9	+ 25,2 ±1,56	62,0 ±3,9	3,3	7,2	+ 0,244	Starker, geschlossener, schwarzbrauner Azotobacter-Rasen, doch etwas weniger stark als bei 3
0,5 ±0,4	62,3	+ 7,6 ±1,61	19,1 ±4,0	1,0	8,9	+ 0,301	Geschlossener, grauer Azotobacter-Rasen mit etwas Schimmel
—	57,1	+ 2,4 ±1,56	6,2 ±3,9	0,3	—	+ 0,237	—
3,3 ±0,4	61,4	+ 6,7 ±1,61	16,8 ±4,0	0,9	5,1	+ 0,251	InselförmigeEinzelkolonieen, überwiegend aus Azotobacter-Rasen bestehend
—	62,1	+ 7,4 ±1,56	18,2 ±3,9	1,0	—	+ 0,122	—
4,8 ±0,4	64,1	+ 9,4 ±1,61	23,6 ±4,0	1,3	1,5	+ 0,108	Keine sichtbare Bakterienentwickelung
—	62,5	+ 7,8 ±1,56	19,6 ±3,9	1,0	2,1	+ 0,129	Desgl.
4,8 ±0,4	67,9	+ 13,2 ±1,61	32,5 ±4,0	1,7	1,5	+ 0,079	InselförmigeEinzelkolonieen, überwiegend aus Azotobacter bestehend
—	84,3	— 5,5 ±1,63	13,8 ±4,1	—	—	Spur +	—
1,0 ±0,4	121,0	+ 31,2 ±1,69	77,4 ±4,2	4,1	5,3	+ 0,036	Geschlossener, grauer Azotobacter-Rasen mit etwas Schimmel

Reihe No.	Einzelversuch No.	Sonderbehandlung	Versuchsdauer in Tagen	Stickstoffeinfuhr in mg pro Schale[2]) in 400 kg Trockenboden	in 380 ccm Mannitlösung	in 10 g Rinderkot	Zusammen	Am Schlusse des Ver… dener Stickstoff in mg im Boden	in 2000 ccm Wasser I
XI	21	0,5 g K_2HPO_4 [1])	74	52,6	2,1	—	54,7 ±1,1	58,1 ±1,0	5,7 ±0,5
	22		96	52,6	2,1	—	54,7 ±1,1	72,4 ±1,0	4,3 ±0,5
XII	23	+ 0,5 Proz. CaO-Wert durch $CaCO_3$ und 10 g Rinderkot [1])	74	52,6	2,1	35,1	89,8 ±1,2	116,0 ±1,0	7,2 ±0,5
	24		100	52,6	2,1	35,1	89,8 ±1,2	129,6 ±1,0	6,7 ±0,5
XIII	25	+ 0,5 Proz. CaO-Wert durch $CaCO_3$ und 0,5 g $K_2H.PO_4$ [1])	74	52,6	2,1	—	54,6 ±1,1	57,1 ±1,0	4,3 ±0,5
	26		96	52,6	2,1	—	54,6 ±1,1	65,3 ±1,0	4,3 ±0,5
XIV	27	Ohne Mannit	96	52,6	—	—	52,6 ±1,1	50,4 ±1,0	0 ±0,5
XV	28	Kalkkarbonat wie 11/12, Rinderkot wie 19/20, $K_2H.PO_4$ wie 21/22, doch ohne Mannitlösung	74	52,6	—	35,1	87,7 ±1,1	78,7 ±1,0	0 ±0,5
	29		93	52,6	—	35,1	87,7 ±1,1	63,6 ±1,0	0 ±0,5

20° C in einem staubfreien, sonst überhaupt nicht benutzten Bodenraum. Beim Abschluß wurden Wasser und Boden quantitativ gesammelt, ihrer Menge nach genau bestimmt und auf Stickstoff untersucht. Die zum Verschluß des Ansatzrohres benutzte Glaswolle wurde nach sorgsamer Zerkleinerung einfach dem Bodenmaterial beigemengt.

Bezüglich der Untersuchung sei erwähnt, daß der Stickstoff des Bodens in 6mal 20 g lufttrockenen Materials nach Kjeldahl-Jodlbauer bestimmt wurde. Das in den Erlenmeyer-Kolben enthaltene Wasser wurde zur Bestimmung seines Stickstoffgehaltes auf 2 l aufgefüllt. Davon wurden 3mal 500 ccm unter Zusatz von reinen Zinkspänen und etwas Schwefelsäure eingedampft und zur quantitativen Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl-Gunning verwendet. Der Rest wurde qualitativ auf Nitrit-, Nitrat- und Ammoniakstickstoff geprüft. Der Versuchsplan ist mit dem Schlußergebnis in der Tab. XII. zusammengestellt.

(Siehe Tabelle XII p. 580—583.)

Die analytischen Belege zur Schlußtabelle XII und der Nachweis über das Verhalten der in der früher angegebenen Weise mit Aufschütte-

1) Dazu 1,9 Proz. der Bodenmasse an Mannit in Form von Beijerinckscher Mannitlösung.

2) Die speziellen Nachweise sind in der Anhangstabelle XIIa zusammengestellt.

3) Die speziellen Nachweise sind in den Anhangstabellen XIIb und XIIc zusammengestellt.

suchs vorhan- pro Schale[3])		Stickstoffgewinn (+) oder Verlust (—) pro Schale	Stickstoffgewinn in mg			Alkalität (+) oder Azidität (—) in CaO-Aequivalent für Trockenboden am Schlusse des Versuches	Aussehen der mit Bodenauschüttelung übergossenen Kalkplatten am 10. Tage nach dem Ansetzen
in 2000 ccm Wasser II	Zusammen	mg	für 1 kg Bodentrockensubstanz	für 1 g Mannit im Boden	für 1 g Mannit in Beijerinckscher Lösung	Proz.	
—	63,8	+ 9,1 ± 1,56	22,8 ± 3,9	1,2	—	± 0	—
0,5 ± 0,4	77,2	+ 22,5 ± 1,61	56,0 ± 4,0	3,0	8,3	Spur +	Starker, geschlossener, schwarzbrauner Azotobacter-Rasen, doch etwas weniger stark als bei 3
—	123,2	+ 33,4 ± 1,63	82,5 ± 4,1	4,4	8,6	+ 0,287	Starker, geschlossener, schwarzbrauner Azotobacter-Rasen
0 ± 0,4	136,3	+ 46,5 ± 1,69	115,2 ± 4,0	6,1	7,2	+ 0,286	Desgl.
—	61,4	+ 6,8 ± 1,56	16,8 ± 3,9	0,9	—	+ 0,287	—
3,8 ± 0,4	73,4	+ 18,8 ± 1,61	46,5 ± 4,0	2,5	7,8	+ 0,273	Geschlossener, grauer Azotobacter-Rasen mit etwas Schimmel
3,3 ± 0,4	53,7	+ 1,1 ± 1,61	2,7 ± 4,0	—	5,8	± 0	Inselförmige Einzelkolonieen, überwiegend aus Azotobacter bestehend
—	78,7	— 9,0 ± 1,63	22,5 ± 4,1	—	—	+ 0,287	—
0,5 ± 0,4	64,1	— 23,6 ± 1,69	59,0 ± 4,2	—	7,5	+ 0,279	Inselförmige Einzelkolonieen, überwiegend aus Azotobacter bestehend

lung von rohem Boden versetzten bezw. übergossenen Beijerinckschen Mannitlösungen und Kalkplatten sind in den Anhangstabellen XIIa bis XIId zusammengestellt. Von einer Wiedergabe der photographisch aufgenommenen Kalkplattenbilder ist der Vervielfältigungskosten wegen abgesehen, zumal die Aufzeichnungen in Anhangstabelle XIId den Befund wohl in genügend deutlicher Weise kennzeichnen.

Da auch die nachfolgenden Versuche noch viel Material für die Beantwortung der durch den Versuch angeschnittenen Fragen liefern, mag von einer Besprechung der Ergebnisse zunächst abgesehen werden. Jedenfalls zeigen sie in manchen Reihen einen auch den Grenzfehler erheblich überschreitenden Stickstoffgewinn. Aber auch mancherlei Unklarheiten und Widersprüche in den Versuchsergebnissen sind unverkennbar. Dieser Umstand und andere Mängel der Versuchsmethode machten es notwendig, zunächst auf deren Verbesserung Bedacht zu nehmen. Insbesondere erwiesen sich bei der gewählten Arbeitsweise folgende Umstände störend:

1) Die Untersuchung des in den Erlenmeyer-Kolben befindlichen Wassers verursachte viel entbehrliche Arbeit.

2) Das Wasser in den Erlenmeyer-Kolben entzog dem Boden fortgesetzt Bestandteile, so daß die durch die Sonderbehandlung bedingte Verschiedenartigkeit der Reihen allmählich mehr und mehr verschwand, wohingegen ungewollte Verschiedenheiten in den Versuch hineingetragen wurden. Bei den mit Kali- und Natronkarbonat behandelten Böden z. B. zeigte das Wasser durch die aus dem Boden ausgelaugten Bestandteile

sogar deutlich gelbe Farbe und ausgesprochen alkalische Reaktion. Auch die Reaktionsprüfung beim Versuchsschluß bewies, daß die zugesetzten Alkalikarbonate während der Versuchsdauer größtenteils ausgelaugt waren.

3) Ferner verursachte die fortlaufende Zugabe von alkalischer Beijerinckscher Mannitlösung eine Reaktionsveränderung, durch die der ursprünglich sauere Boden während der Versuchsdauer fast überall neutral oder schwach alkalisch wurde.

4) In der kapillaren Wasseraufleitung traten gelegentlich Störungen ein. Das war z. B. bei den Reihen 5, 27, 28 und 29 der Fall, die sich bei einer Ende Oktober vorgenommenen Prüfung fast ganz trocken erwiesen, ohne daß der mit der Ueberwachung betraute Assistent dieses wahrgenommen hätte.

Deshalb wurden alle nachfolgenden Versuche in ähnlicher Weise, wie es von A. Koch[1]) geschehen, in großen Petri-Schalen oder auf Steinguttellern durchgeführt. Diese wurden austariert, mit einer bestimmten Menge des planmäßig vorbereiteten Erdmaterials beschickt und bedeckt in einem auf 20—25 ^{0} C erwärmten Dunkelraum oder Thermostaten aufgestellt. Die Regulierung des Wassergehaltes im Boden erfolgte von Woche zu Woche durch Aufwiegen jeder Schale auf ein Gewicht $=$ Tara $+$ Trockenboden $+ \frac{w}{2}$, wobei w die zur vollen Sättigung des Bodens erforderliche Wassermenge bedeutet. In der Zwischenzeit wurde die Feuchtigkeit im Bedarfsfalle nach dem Augenschein reguliert. An Stelle der alkalischen Beijerinckschen Mannitlösung wurde die Kraftquelle fortan in reiner wässeriger Lösung gegeben. Die Untersuchung auf Stickstoff und Reaktion konnte infolgedessen beim Abschluß des Versuchs auf den sorgsam gemischten Schaleninhalt beschränkt bleiben. Die Bodenmenge, die neben ihrem Gehalt an Stickstoff für die beim Versuchsschluß vorhandene absolute Stickstoffmenge maßgebend ist, wurde bei dem ersten der nachfolgenden Versuche noch bestimmt. Es zeigte sich aber stets, daß die absoluten Veränderungen des Bodenvorrates an Stickstoff im prozentischen Stickstoffgehalt des trockenen Bodens einen genügend genauen Ausdruck finden. Deshalb ist später von einer Bestimmung der beim Versuchsabschluß vorhandenen Bodenmenge abgesehen und für sie das Anfangsgewicht angenommen.

Versuch 2.

Zum 2. Versuch diente wieder Rheintalsand, der demselben Grundstück, wie der zu Versuch 1 benutzte Boden entstammte. Die Untersuchung ergab bei Beginn des Versuches in der Bodentrockensubstanz:

a) 0,0154 $\pm$ 0,00031 Proz. Stickstoff,
b) eine 0,043 Proz. CaO äquivalente Menge freier Säure.

Der Boden wurde vor der Verwendung mit 1 Proz. des auch zum Versuch 1 benutzten Impfbodens und mit 0,2 Proz. KH_2PO_4 versetzt. Dann wurde das Gemisch zu je 1 kg Trockenboden in tarierte Glasschalen gebracht, die bei 23—26 ^{0} C im Thermostaten stehen blieben. Der Versuch begann am 9. Jan. 1908. Die Anordnung ist aus der nachfolgenden Zusammenstellung zu ersehen:

1) Journ. f. Landwirtsch. Bd. LV. 1907. p. 355 ff.

Versuchsreihe No.	Einzelversuche No.	Sonderbehandlung
XVI	30, 31	Roher Boden, unbehandelt
XVII	32, 33	„ „ + 2 Proz. Mannit
XVIII	34, 35	„ „ + 2 „ Stallmisttrockensubstanz
XIX	36, 37	„ „ + 2 „ Mannit + 1,21 g Zitronensäure (die Azidität des Trockenbodens wurde dadurch auf 0,1 Proz. SO_3-Wert gebracht)
XX	38, 39	Neutralisierter Boden + 0,25 Proz. CaO-Wert als $CaCO_3$
XXI	40, 41	„ „ + 0,25 „ CaO-Wert als $CaCO_3$ + 2 Proz. Mannit
XXII	42, 43	„ „ + 0,25 „ CaO-Wert als $CaCO_3$ + 2 Proz. Stallmisttrockensubstanz
XXIII	44, 45	„ „ + 0,25 „ CaO-Wert als $CaCO_3$ + 2 Proz. Saccharose
XXIV	46, 47	„ „ + 0,25 „ CaO-Wert als $MgCO_3$ + 2 Proz. Mannit
XXV	48, 49	„ „ + 0,25 „ CaO-Wert als K_2CO_3 + 2 Proz. Mannit
XXVI	50, 51	„ „ + 0,25 „ CaO-Wert als Na_2CO_3 + 2 Proz. Mannit

Die verwendeten Kraftquellen Mannit und Saccharose wurden in wässeriger Lösung am 9. Jan. zu 1,0 Proz., am 20. und 24. Jan. zu je 0,5 Proz. der Bodentrockensubstanz gegeben. Der Wassergehalt wurde alle Wochen durch Auswiegen auf die vorgesehene Höhe von 15 Proz. gebracht. Der Versuch verlief störungslos. Am 3. Febr. wurden je 500 g Trockenboden aus jeder Schale zur Stickstoff- und Alkalitätsbestimmung entnommen. Durch nochmalige Untersuchung des ohne erneuten Kraftquellenzusatz wie vorher weiter behandelten Bodens wurde der Versuch nach 50-tägiger Dauer am 28. Febr. abgeschlossen. Die Schlußergebnisse sind in Tabelle XIII zusammengestellt (p. 586 u. 587). Die analytischen Belege und die Nachweise über das Verhalten der mit Bodenausschüttelung versehenen Kalkplatten sind in den 4 Anhangstabellen XIIIa—XIIId zu finden.

Die in den Stallmistreihen XVIII und XXII festgestellten Stickstoffverluste veranlaßten dazu, den Versuch mit den nach der 2. Untersuchung übrig gebliebenen Resten dieser Reihen fortzusetzen. Die Schaleninhalte wurden zu dem Zweck reihenweise vereinigt, sorgsam gemischt, dann zu je 275 g in neue Petri-Schalen gebracht und einer Sonderbehandlung unterzogen, deren Art und Erfolg der nachfolgenden Tabelle zu entnehmen ist:

(Siehe Tabelle p. 586 unten.)

Der Befund zeigt, daß Mangel an Kraftquelle die Stickstoffsammlung in den mit Stalldünger behandelten Reihen verhindert hat.

Versuch 3.

Der zu den Versuchen 1 und 2 benutzte Boden war durch ungewöhnlich niedrigen Stickstoffgehalt gekennzeichnet. Die Möglichkeit, daß dieser Umstand eine wesentliche Vorbedingung für die festgestellte bedeutende Stickstoffsammlung in manchen Reihen der Vorversuche und ein Hindernis für die Verallgemeinerung ihrer Ergebnisse bilden, war nicht ohne weiteres von der Hand zu weisen. Schon deshalb wurde zu

Tabelle XIII. Versuch 2,

Reihe No.	Sonderbehandlung	Einzelversuch No.	Beim Versuchsbeginn Stickstoff [1]) pro Schale mg	Stickstoff nach 25 Tagen [2]) pro Schale in mg	Stickstoff nach 50 Tagen [3]) pro Schale in mg	Gesammelt an Stickstoff in 25 Tagen pro 1 kg Trockenboden mg
XVI	Roher Boden, unbehandelt	30	154,2 ± 3,1	162,5	167,3	8,3 ± 6,3
		31	154,2 ± 3,1	162,3	156,6	8,1 ± 6,3
XVII	Roher Boden + 2 Proz. Mannit	32	154,2 ± 3,1	276,2	285,1	122,0 ± 6,3
		33	154,2 ± 3,1	257,4	261,1	103,2 ± 6,3
XVIII	Roher Boden + 2 Proz. Stallmisttrockensubstanz	34	380,2 ± 3,2	359,8	329,2	—20,4 ± 6,4
		35	380,2 ± 3,2	359,8	354,4	—20,4 ± 6,4
XIX	Roher Boden + 0,1 Proz. SO_3-Wert als Zitronensäure + 2 Proz. Mannit	36	154,2 ± 3,1	162,1	162,0	+7,9 ± 6,3
		37	154,2 ± 3,1	162,1	168,1	+7,9 ± 6,3
XX	Neutral. Boden + 0,25 Proz. CaO-Wert als $CaCO_3$	38	154,2 ± 3,1	175,0	192,6	20,8 ± 6,3
		39	154,2 ± 3,1	162,2	167,8	8,0 ± 6,3
XXI	Neutral. Boden + 0,25 Proz. CaO-Wert als $CaCO_3$ + 2 Proz. Mannit	40	154,2 ± 3,1	397,3	379,4	243,0 ± 6,3
		41	154,2 ± 3,1	359,4	361,6	205,2 ± 6,3
XXII	Neutral. Boden + 0,25 Proz. CaO-Wert als $CaCO_3$ + 2 Proz. Stallmisttrockensubstanz	42	380,2 ± 3,2	365,7	359,9	—14,5 ± 6,4
		43	380,2 ± 3,2	341,5	341,6	—38,7 ± 6,4
XXIII	Neutral. Boden + 0,25 Proz. CaO-Wert als $CaCO_2$ + 2 Proz. Saccharose	44	154,2 ± 3,1	323,5	333,7	169,3 ± 6,3
		45	154,2 ± 3,1	294,7	329,1	140,5 ± 6,3
XXIV	Neutral. Boden + 0,25 Proz. CaO-Wert als $MgCO_3$ + 2 Proz. Mannit	46	154,2 ± 3,1	373,1	375,4	218,9 ± 6,3
		47	154,2 ± 3,1	365,5	366,0	211,3 ± 6,3
XXV	Neutral. Boden + 0,25 Proz. CaO-Wert als K_2CO_3 + 2 Proz. Mannit	48	154,2 ± 3,1	228,1	218,8	73,9 ± 6,3
		49	154,2 ± 3,1	251,8	213,1	97,6 ± 6,3
XXVI	Neutral. Boden + 0,25 Proz. CaO-Wert als Na_2CO_3 + 2 Proz. Mannit	50	154,2 ± 3,1	185,2	202,9	31,0 ± 6,3
		51	154,2 ± 3,1	185,2	185,2	31,0 ± 6,3

1) Analytische Belege in Anhangstabelle XIVa. 2) Analytische Belege in Anhangs

Bisherige Reihe und Behandlung	Neue Reihe	Neue Behandlung	Stickstoffmenge pro 1 kg Trockenboden in mg			
			Beim Versuchsbeginn (am 13. März)	Beim Versuchsschluß (am 11. April)	Stickstoffgewinn (+) oder -verlust (—)	
					pro 1 kg Boden	pro 1 g Mannit
XVIII. Stallmist	XVIIIa	Unbehandelt	341,8	371,5	+ 29,8 ± 5,4	—
	XVIIIb	2 Proz. Mannit in 4 Gaben à 0,50 Proz.	341,8	600,0	+258,2 ± 5,4	+ 12,9
XXII. Stallmist + Kalk	XXIIa	Unbehandelt	350,8	339,0	— 11.8 ± 5,4	—
	XXIIb	2 Proz. Mannit in 4 Gaben à 0,50 Proz.	350,8	622,2	+271,4 ± 5,4	+ 13,6

Reihe XVI—XXVI.

Gesammelt an Stickstoff in 50 Tagen pro 1 kg Trockenboden mg	Stickstoffsammlung pro 100 ccm Beijerinckscher Mannitlösung in 25 Tagen mg		Stickstoffgewinn pro 1 g Mannit im Boden nach 25 Tg.	im Boden nach 50 Tg.	in Beijerinckscher Mannitlösung nach 25 Tg.	Alkalität (+) oder Azidität (—) in CaO-Aequivalent f. Trockenboden nach 50 Tagen Proz.	Aussehen der mit Bodenausschüttelung übergossenen Kalkplatten am 10. Tage nach dem Ansetzen
+ 13,1 ± 5,5	3,22	3,41			1,61	± 0,000	Ohne sichtbare Bakterienentwickelung
+ 2,2 ± 5,5	3,59				1,80	— 0,043	
+130,9 ± 5,5	4,30	4,66	6,10	6,55	2,15	+ 0,014	Kleine inselförmige Azotobacter-Kolonieen
+106,9 ± 5,5	5,02		5,16	5,35	2,51	— 0,009	
— 51,0 ± 5,5	12,55	13,45	.	—	6,28	+ 0,043	Ziemlich starker, doch nicht ganz geschlossener Azotobacter-Rasen
— 25,8 ± 5,5	14,34		.	—	7,17	+ 0,029	
+ 7,8 ± 5,5	2,87	3,41	0,39	0,38	1,44	— 0,043	Ohne sichtbare Bakterienentwickelung
+ 13,9 ± 5,5	3,95		0,39	0,70	1,98	— 0,029	
+ 38,4 ± 5,5	5,02	4,30			2,51	+ 0,230	Desgl.
+ 13,6 ± 5,5	3,59				1,80	+ 0,244	
+225,2 ± 5,5	13,62	13,62	12,15	11,26	6,81	+ 0,230	Starker, vollständig geschlossener, dunkelbrauner Azotobacter-Rasen
+207,4 ± 5,5	13,62		10,26	10,37	6,81	+ 0,230	
— 20,3 ± 5,5	5,74	5,38	.	—	2,87	+ 0,244	Schwache Azotobacter-Entwickelung
— 38,6 ± 5,5	5,02		.	—	2,51	+ 0,216	
+179,5 ± 5,5	13,99	13,63	8,47	8,98	7,00	+ 0,230	Starker, geschlossener, schwarzbrauner Azotobacter-Rasen
+174,5 ± 5,5	13,27		7,03	8,73	6,64	+ 0,244	
+221,2 ± 5,5	14,70	15,06	10,95	11,06	7,35	+ 0,272	Desgl.
+211,8 ± 5,5	15,42		10,57	10,59	7,71	+ 0,258	
+ 64,6 ± 5,5	3,59	3,59	3,70	3,23	1,80	+ 0,258	Ganz schwache Azotobacter-Entwickelung
+ 58,9 ± 5,5	3,59		4,88	2,95	1,80	+ 0,244	
+ 48,7 ± 5,5	2,51	2,87	1,55	2,44	1,26	+ 0,200	Ohne sichtbare Bakterienentwickelung
+ 30,9 ± 5,5	3,22		1,55	1,55	1,61	+ 0,200	

tabelle XIVb. 3) Analytische Belege in Anhangstabelle XIVc.

dem nun folgenden Versuche Boden des Poppelsdorfer Versuchsfeldes verwendet, und zwar von dem in Tabelle XI und Taf. IV bereits charakterisierten Beete N III 1. Aber noch ein anderer Umstand ließ eine genauere Prüfung des Bodens dieses Beetes verlockend erscheinen. Es erhält nämlich im Gegensatz zu den allen übrigen Parzellen des Versuches Stalldünger. Es ist naheliegend, von letzterem eine Förderung der Stickstoffsammlung zu erwarten, weil der Stallmist beim Feldbau neben den Ernterückständen wohl die ergiebigste Kraftquelle für die Kleinlebewelt des Bodens darstellt. Das gänzliche Fehlen von Azotobacter bei der 1. und 2. Untersuchung (s. Tab. XI und Taf. I—IV), sowie die mit Stallmistzusatz gemachten Erfahrungen in den Vorversuchen 1 und 2 sprechen aber nicht für eine besondere Azotobacter-fördernde Wirkung des Stalldüngers. Fehlt es trotz der Zufuhr bedeutender Mengen von humusbildenden Substanzen durch den Stallmist auf dem Beet N III 1 an einer den Stickstoffsammlern zusagenden Kraftquelle? Oder schränkte

Kalkmangel die Stickstoffanreicherung auf dem Stallmistbeet ein? Oder ist eine anderweitige infolge der Mistdüngung eintretende Aenderung des Bodenklimas und eventuell welche die die Ausgiebigkeit der Stickstoffsammlungsvorgänge auf dem Stallmistbeet beschränkende Ursache? Das waren die Fragen, welche durch den am 16. Jan. 1908 begonnenen Versuch 3 der Lösung entgegengeführt werden sollten. Das frisch dem Felde entnommene Bodenmaterial wurde beim Versuchsbeginn zunächst mit 1 Proz. Azotobacter-reicher Impferde von Parzelle N III 7 (siehe Tabelle XI u. Taf. IV) vermischt und zu 400 g Trockenerde in Schalen gebracht. Mit Glasplatten bedeckt blieben diese bei ca. 25° C in der Dunkelkammer stehen. Die Regulierung des Wassergehaltes auf 20 Proz. wurde wie bei Versuch 2 vorgenommen. Als Kraftquelle fand wässerige Lösung mit gleichen Teilen Mannit und Dextrose, die sich bei der Prüfung als stickstofffrei erwiesen hatten, Verwendung. Die Versuchsanordnung ergibt sich aus der nachfolgenden Zusammenstellung:

Versuchsreihe No.	Einzelversuch No.	Sonderbehandlung
XXVII	52—53	Unbehandelt
XXVIII	54—55	0,25 Proz. CaO äquivalente Menge von $CaCO_3$
XXIX	56—57	0,50 " " " " " "
XXX	58—59	2,00 " Mannit-Dextrose { 0,50 Proz. am 16. Jan. 0,50 " " 24. " 0,50 " " 31. " 0,50 " " 8. Febr.
XXXI	60—61	0,25 " CaO äquivalente Menge $CaCO_3$ und 2,00 " Mannit (Verteilung wie bei XXX)

Während der Versuchsdauer machten sich schon durch den Geruch Unterschiede bei den verschieden behandelten Reihen bemerkbar. So zeigte Reihe XXX ausgesprochenen Buttersäuregeruch, während Reihe XXXI charakteristischen Erdgeruch und zugleich schleimige Ueberzüge von Bakterien aufwies. Die 1. Untersuchung fand am 19. Febr. statt. Dann wurde der Versuch ohne erneute Sonderbehandlung der Reihen unverändert bis zum 20. März fortgeführt und an diesem Tage abgeschlossen. Die zahlenmäßigen Ergebnisse des Versuches sind in Tabelle XIV und der Anhangstabelle XIVa, die Photographieen der Kalkplatten in Taf. V (2 untere Reihe) wiedergegeben.

Der Versuch ergibt, daß Mangel an einer geeigneten Kraftquelle die Hauptursache der geringen Stickstoffsammlung auf dem Stallmistbeete war. Doch fehlte es dem Boden zugleich an der für eine ausgiebige Betätigung der Stickstoffsammler erforderlichen Kalkmenge.

Daß das Klima des untersuchten Bodens den Stickstoffsammlern keineswegs besonders ungünstig war, zeigt die vortreffliche Erhaltung der in der Impferde zugeführten Azotobacter-Bakterien. Ihre üppige Entwickelung auf den mit Bodenausschüttelung geimpften Kalkplatten und die starke Stickstoffsammlung in Beijerinckscher Mannitlösung bei den Reihen XXVII, XXVIII und XXIX beweist am besten, daß die in der Impferde zugeführten Azotobacter-Bakterien in dem nicht mit Kalk und Energiequelle versetzten Boden ungeschwächt nur auf günstige Lebensbedingungen lauerten, um in Tätigkeit treten zu können.

Tabelle XIV. Versuch 3, Reihen XXVII—XXXI[1].

Reihe No.	Sonderbehandlung	Einzelversuch No.	Beim Versuchsbeginn Stickstoff pro Schale mg	19. Febr. (34 Tage): Stickstoff pro Schale mg	19. Febr.: Stickstoffgewinn pro Schale mg	19. Febr.: Alkalität (+) oder Acidität (—) in CaO-Aequivalent für Trockenboden Proz.	19. Febr.: In Salmiaklösung lösliches CaO Proz.	19. Febr.: Stickstoffgewinn in mg 1. pro 1 kg Trockenboden	19. Febr.: Stickstoffgewinn in mg 2. pro 100 ccm Beijerinck'sche Mannitlösung	19. Febr.: Stickstoffgewinn in mg 3. pro 1 g Kraftquelle im Boden	19. Febr.: Stickstoffgewinn in mg 4. pro 1 g Kraftquelle in Beijerinckscher Mannitlösung	27. März (71 Tage): Stickstoff pro Schale mg	27. März: Nach 71 Tagen Stickstoffgewinn pro Schale mg	27. März: Stickstoffgewinn in mg 1. pro 1 kg Trockenboden	27. März: Stickstoffgewinn in mg 2. pro 1 kg Kraftquelle im Boden
XXVII	Roher Boden	52	412,4	420,1	+ 7,7	0,176	0,157	19,3 ± 6,25	14,81	—	7,4	407,8	— 4,6	— 11,5 ± 14,3	—
		53	412,4	418,7	+ 6,3	0,146		15,8 ± 6,25	14,47	—	7,2				
XXVIII	Roher Boden + 0,25 Proz. CaO-Wert als $CaCO_3$	54	412,4	419,4	+ 7,0	0,370	0,380	17,5 ± 6,25	14,47	—	7,2	399,3	— 13,1	— 32,8 ± 14,3	—
		55	412,4	420,8	+ 8,4	0,413		21,0 ± 6,25	14,47	—	7,2				
XXIX	Roher Boden + 0,50 Proz. CaO-Wert als $CaCO_3$	56	412,4	420,7	+ 8,3	0,570	0,577	20,8 ± 6,25	15,81	—	7,9	419,4	+ 7,0	+ 17,5 ± 14,3	—
		57	412,4	424,3	+ 11,9	0,586		29,8 ± 6,25	15,14	—	7,6				
XXX	Roher Boden + 1 Proz. Mannit + 1 Proz. Dextrose	58	412,4	458,3	+ 45,9	0,186	0,150	114,8 ± 6,25	13,80	5,5	6,9	433,1	+ 20,7	+ 51,8 ± 14,3	+ 2,6
		59	412,4	459,2	+ 46,8	0,156		117,0 ± 6,25	13,80	5,6	6,9				
XXXI	Roher Boden + 0,25 Proz. CaO-Wert als $CaCO_3$ + 1 Proz. Mannit + 1 Proz. Dextrose	60	412,4	492,9	+ 80,5	0,382	0,381	201,3 ± 6,25	15,14	9,7	7,6	492,9	+ 80,5	+ 201,3 ± 14,3	+ 10,1
		61	412,4	488,6	+ 76,2	0,359		176,6 ± 6,25	14,47	9,2	7,2				

1) Analytische Belege in Anhangstabelle XIVa.

Tabelle XV.

Versuchs-reihe No.	Boden	Sonderbehandlung	Einzelversuch No.	Beim Versuchsbeginn Stickstoff pro Schale mg	Untersuchung vom tägiger Ver: Stickstoff pro Schale mg	Stickstoffgewinn pro Schale mg	Alkalität (+) oder Azidität (−) in CaO-Aequivalent für Trockenboden Proz.
XXXII	III 1	0,1 Proz. Sublimat	62	412,0 ± 2,6	414,4	2,4 ± 3,3	+ 0,119
			63	412,0 ± 2,6	415,6	3,6 ± 3,3	+ 0,111
XXXIII	„	Ohne Zusatz	64	412,0 ± 2,6	427,3	15,3 ± 3,3	+ 0,156
			65	412,0 ± 2,6	427,4	15,4 ± 3,3	+ 0,086
XXXIV	„	1 Proz. Mannit + 1 Proz. Dextrose	66	412,0 ± 2,6	441,1	29,1 ± 3,3	+ 0,077
			67	412,0 ± 2,6	437,0	25,0 ± 3,3	+ 0,077
XXXV	III 2	0,1 Proz. Sublimat	68	330,7 ± 1,6	335,1	4,5 ± 2,5	+ 0,121
			69	330,7 ± 1,6	335,3	4,6 ± 2,5	+ 0,086
XXXVI	„	Ohne Zusatz	70	330,7 ± 1,6	340,1	9,4 ± 2,5	+ 0,122
			71	330,7 ± 1,6	338,2	7,5 ± 2,5	+ 0,092
XXXVII	„	1 Proz. Mannit + 1 Proz. Dextrose	72	330,7 ± 1,6	367,3	36,6 ± 2,5	+ 0,098
			73	330,7 ± 1,6	357,1	26,4 ± 2,5	+ 0,124
XXXVIII	III 3	0,1 Proz. Sublimat	74	302,8 ± 2,7	304,1	1,3 ± 3,3	+ 0,719
			75	302,8 ± 2,7	311,4	8,6 ± 3,3	+ 0,738
XXXIX	„	Ohne Zusatz	76	302,8 ± 2,7	308,2	5,4 ± 3,3	+ 0,757
			77	302,8 ± 2,7	312,1	9,3 ± 3,3	+ 0,764
XL	„	1 Proz. Mannit + 1 Proz. Dextrose	78	302,8 ± 2,7	370,2	67,4 ± 3,3	+ 0,740
			79	302,8 ± 2,7	368,2	65,4 ± 3,3	+ 0,731
XLI	III 4	0,1 Proz. Sublimat	80	325,2 ± 3,2	333,1	7,9 ± 3,8	+ 0,284
			81	325,2 ± 3,2	338,5	13,3 ± 3,8	+ 0,236
XLII	„	Ohne Zusatz	82	325,2 ± 3,2	338,1	12,9 ± 3,8	+ 0,217
			83	325,2 ± 3,2	338,4	13,2 ± 3,8	+ 0,184
XLIII	„	1 Proz. Mannit + 1 Proz. Dextrose	84	325,2 ± 3,2	397,8	72,6 ± 3,8	+ 0,226
			85	325,2 ± 3,2	392,5	67,3 ± 3,8	+ 0,240
XLIV	III 7	0,1 Proz. Sublimat	86	293,4 ± 0,9	304,6	11,2 ± 2,2	+ 0,836
			87	293,4 ± 0,9	299,7	6,3 ± 2,2	+ 0,827
XLV	„	Ohne Zusatz	88	293,4 ± 0,9	316,6	23,2 ± 2,2	+ 0,873
			89	293,4 ± 0,9	309,1	15,7 ± 2,2	+ 0,873
XLVI	„	1 Proz. Mannit + 1 Proz. Dextrose	90	293,4 ± 0,9	382,7	89,3 ± 2,2	+ 0,852
			91	293,4 ± 0,9	376,1	82,7 ± 2,2	+ 0,853

1) Analytische Belege in Anhangstabellen XVa—XVc.

Versuch 4.

Zu dem Versuch wurde frisch entnommene Versuchsfelderde von den Parzellen N III 1, III 2, III 3, III 4 und III 7 benutzt. Das Verhalten dieser Böden in Beijerinckscher Mannitlösung und auf Kalk-

Versuch 4[1]).

21. Febr. nach 34-suchsdauer				Untersuchung vom 27. März nach 69-tägiger Versuchsdauer				
Sticktoffgewinn in mg						Stickstoffgewinn in mg		
1.	2.	3.	4.			1.	2.	Aussehen der mit Bodenausschüttelung übergossenen Kalkplatten bei der 1. Untersuchung
pro 1 kg Trockenboden	pro 100 ccm Beijerinckscher Mannitlösung	pro 1 g Mannit-Dextrose im Boden	pro 1 g Mannit in Beijerinckscher Lösung	Stickstoff pro Schale mg	Stickstoffgewinn pro Schale mg	für 1 kg Trockensubstanz	für 1 g Kraftquelle	
6,0 ± 8,3 9,0 ± 8,3	— —	— —	— —	409,9	— 2,1 ± 4,0	— 5,3 ± 10,0	—	Ohne sichtbare Bakterienentwickelung
38,1 ± 8,3 38,5 ± 8,3	— —	— —	— —	403,0	— 9,0 ± 4,0	— 22,5 ± 10,0	—	desgl.
72,8 ± 8,3 62,5 ± 8,3	— —	1,1 1,2	— —	436,8	+24,8 ± 4,0	+ 62,0 ± 10,0	0	Vereinzelte Azotobacter-Kolonieen
11,2 ± 6,3 11,5 ± 6,3	2,4 2,0	— —	1,2 1,0	326,2	— 4,5 ± 3,4	— 11,3 ± 8,5	—	Einige Schimmelkolonieen
23,5 ± 6,3 18,8 ± 6,3	6,4 5,7	— —	3,2 2,9	340,0	+ 9,3 ± 3,4	+ 23,3 ± 8,5	—	Wie beim Versuchsbeginn
91,5 ± 6,3 66,0 ± 6,3	12,7 11,8	4,6 3,3	6,4 5,9	365,4	+34,7 ± 3,4	+ 86,8 ± 8,5	0	Große, inselförmige Azotobacter-Kolonieen
3,3 ± 8,3 21,4 ± 8,3	— —	— —	— —	307,9	+ 5,1 ± 4,0	+ 12,8 ± 10,0	—	Ohne sichtbare Bakterienentwickelung
13,5 ± 8,3 23,3 ± 8,3	— —	— —	— —	324,2	+21,4 ± 4,0	+ 53,5 ± 10,0	—	Wie beim Versuchsbeginn
168,6 ± 8,3 163,5 ± 8,3	— —	8,4 8,2	— —	372,3	+69,5 ± 4,0	+173,8 ± 10,0	+8,7	Geschlossener, dunkelbrauner Azotobacter-Rasen
19,8 ± 9,5 33,3 ± 9,5	— —	— —	— —	321,9	— 3,3 ± 4,4	— 8,3 ± 11,0	—	Etwas Schimmel
32,3 ± 9,5 33,0 ± 9,5	— —	— —	— —	319,9	— 5,3 ± 4,4	— 13,3 ± 11,0	—	Wie beim Versuchsbeginn
181,5 ± 9,5 168,3 ± 9,5	— —	9,1 8,4	— —	399,4	+74,2 ± 4,4	+185,5 ± 11,0	+9,8	Geschlossener, dunkelbrauner Azotobacter-Rasen
28,0 ± 5,5 15,8 ± 5,5	1,0 0,7	— —	0,5 0,4	304,1	+10,7 ± 3,1	+ 26,8 ± 7,8	—	Ohne sichtbare Bakterienentwickelung
58,0 ± 5,5 39,3 ± 5,5	13,4 13,8	— —	6,7 6,9	306,1	+12,7 ± 3,1	+ 31,8 ± 7,8	—	Wie beim Versuchsbeginn
223,3 ± 5,5 206,8 ± 5,5	16,4 16,4	11,2 10,3	8,2 8,2	372,3	+78,9 ± 3,1	+197,3 ± 7,8	+9,9	Geschlossener, tiefbrauner Azotobacter-Rasen

platten ist durch Tabelle XI und Taf. IV bereits zur Genüge charakterisiert. Daß bis zum Versuchsbeginn keine wesentlichen Aenderungen im Verhalten der Versuchsböden eingetreten waren, zeigen die auf Taf. VI wiedergegebenen Vegetationsbilder unserer Böden auf Kalkplatten. Die sorgsam gesiebten und gemischten Böden wurden ohne Zusatz von Impferde unter Ausschluß gröberer Infektion zu je 400 g Trocken-

boden in Schalen gebracht und standen während des Versuches mit Glasplatten bedeckt bei einer zwischen 20 und 25° C schwankenden Temperatur in der Dunkelkammer. Der Versuchsplan ergibt sich aus der nachfolgenden Zusammenstellung:

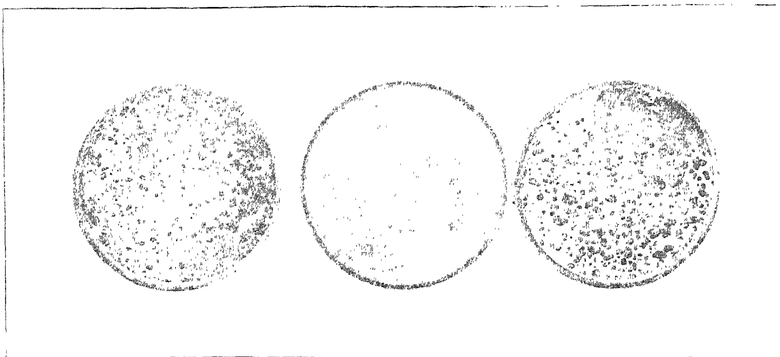
Beet No.	Sonderdüngung im Felde[1])	Sonderbehandlung des Bodens beim Versuchsbeginn					
		+ 0,1 Proz. d. Trockenbodens an Sublimat[2])		Unbehandelt		+ 2 Proz. Mannit-Dextrose	
		Reihe	No. des Einzelversuchs	Reihe	No. des Einzelversuchs	Reihe	No. des Einzelversuchs
III 1	Stallmist	XXXII	62, 63	XXXIII	64, 65	XXXIV	66, 67
III 2	Ungedüngt	XXXV	68, 69	XXXVI	70, 71	XXXVII	72, 73
III 3	Kalk	XXXVIII	74, 75	XXXIX	76, 77	XL	78, 79
III 4	Magnesia	XLI	80, 81	XLII	82, 83	XLIII	84, 85
III 7	Volldüngung	XLIV	86, 87	XLV	88, 89	XLVI	90, 91

Die Versuchsanordnung ist so durchsichtig, daß sie der Erläuterung wohl kaum bedarf. Durch die Einfügung der Sublimatreihe sollte lediglich die Größe einer etwaigen nichtbakteriellen Stickstofffestlegung durch den Boden festgestellt werden.

Der Versuch dauerte vom 18. Jan. bis zum 27. März. Als Kraftquelle fand wie bei Versuch 3 eine gleiche Teile Mannit und Dextrose enthaltende wässerige Lösung Verwendung. Die Kraftquelle wurde in 4 Gaben zu je 0,5 Proz. am 18., 24., 31. Jan. und 8. Febr. verabfolgt. Der Wassergehalt wurde während der Versuchsdauer auf rund 20 Proz. erhalten. Der Versuch verlief störungslos. Bei allen mit Kraftquelle versetzten, aber nicht mit Kalk gedüngten Böden machte sich bald ein ausgesprochener Buttersäuregeruch bemerkbar. Die mit Kalk und Magnesia gedüngten Böden dagegen zeigten in den Reihen mit Mannit-Dextrosezusatz eine schon für das bloße Auge sichtbare massenhafte Azotobacter-Entwickelung, so daß die Bodenteilchen vollständig schleimig eingehüllt waren. Am 21. Febr. wurde ein Teil des Schaleninhaltes erstmalig auf Stickstoff und Alkalität geprüft. Der Rest blieb ohne weitere Sonderbehandlung unter Erhaltung des ursprünglichen Feuchtigkeitszustandes bis zum 27. März stehen. An diesem Tage wurde der Versuch durch eine wiederholte Stickstoffbestimmung zum Abschluß gebracht. Die Ergebnisse des Versuches sind in der Tabelle XV (p. 590 u. 591) und den Anhangstabellen XVa—XVc zusammengestellt.

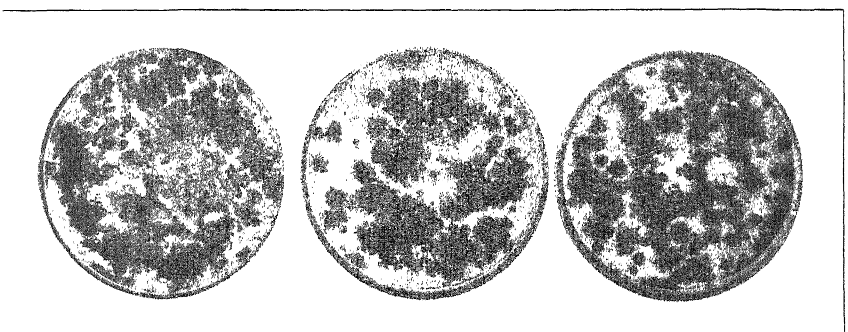
Die Ergebnisse bestätigen durchaus die älteren Befunde, aus denen sich ergab, daß eine nennenswerte Stickstoffsammlung überhaupt nur in jenen Böden stattfindet, denen neben ausreichenden Kalkmengen eine passende Kraftquelle für die Mikroorganismen zur Verfügung steht. Auch zeigen die Versuche wieder, wie bestimmend unter den gewählten Versuchsbedingungen die Azotobacter-Bakterien für die Ausgiebigkeit der Stickstoffsammlung sind. Denn trotz außerordentlich starker Entwickelung von Buttersäurebakterien wiesen die Reihen XXXIV und XXXVII nur geringen Stickstoffgewinn auf. Die Kontrolle der Stickstoffsammlung durch Mannitlösungen beschränkte sich beim Versuchsabschluß auf die Reihen XXXV—XXXVII und XLIV—XLVI, die Ver-

1) Siehe die Tabelle auf p. 574.
2) Entsprechend 0,5 Proz. des Bodenwassers.

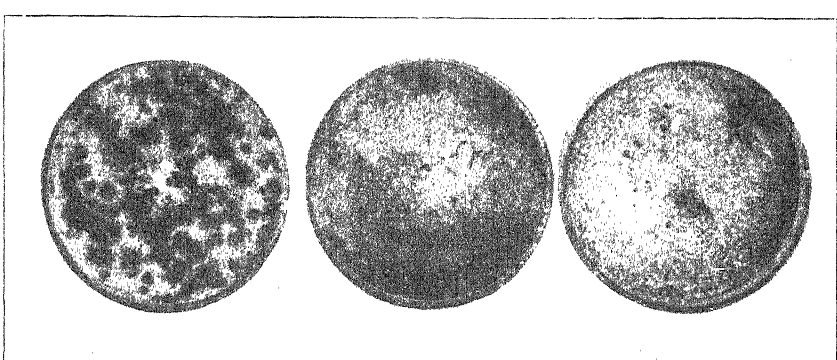


N III 7. Volldüngung ohne Stickstoff. N III 12. Salpeter. N III 14. Volldüngung.

Erläuterung zu den nachfolgenden Tafeln: Die römischen Ziffern sind e Reihennummern. Die arabischen Ziffern geben die Stickstoffsammlung für 1 kg rockenboden wieder.



XXVII. + 17 ± 6,3 mg. XXVIII. + 19 ± 6,3 mg. XXIX. + 25 ± 6,3 mg.

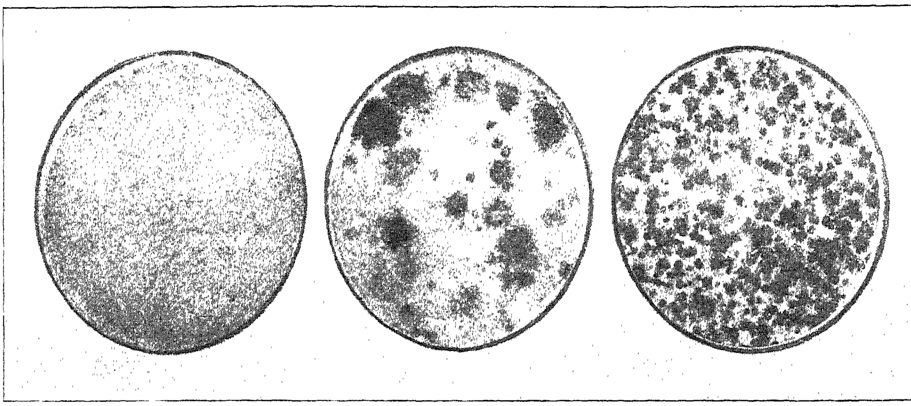


XXIX. + 25 ± 6,3 mg. XXX. + 115 ± 6,3 mg. XXXI. + 189 ± 6,3 mg.

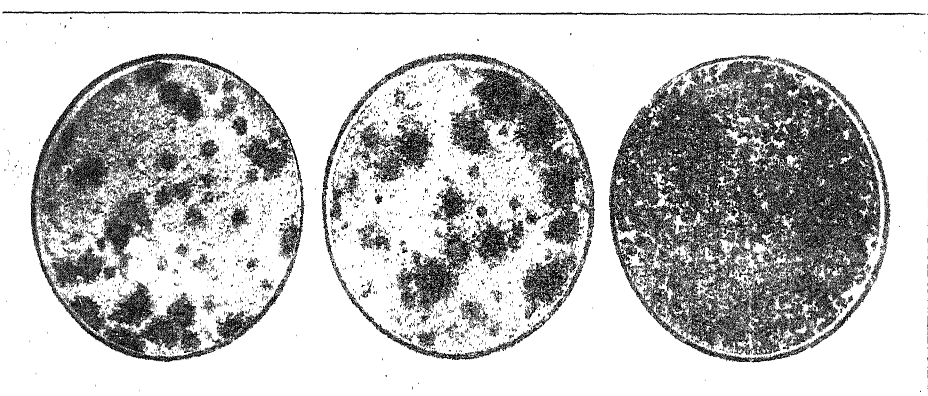
Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena**.

***Remy**, Unters. üb. d. Stickstoffsammlungsvorgänge in ihrer Beziehung zum Bodenklima.*

Erläuterung: Die Tafel kennzeichnet das Verhalten der zu Versuch 4 benutzten Böden beim Versuchsbeginn. Die unter der Kennziffer stehenden arabischen Ziffern geben den Stickstoffgewinn der mit 1 Proz. Mannit und 1 Proz. Dextrose versetzten Böden pro 1 kg Trockenboden nach 34-tägiger Versuchsdauer an.



Boden N III 1. + 23,6 mg | Boden N III 2. + 78,8 mg | Boden N III 3. + 166,1 mg

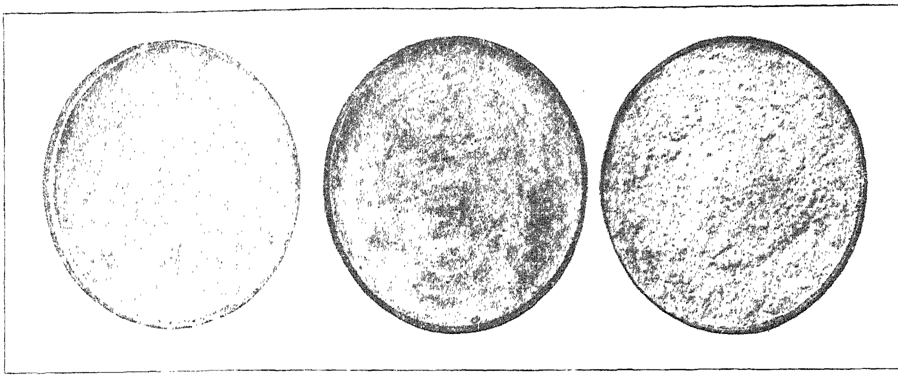


Boden N III 4. + 174,9 mg | Boden N III 2. + 78,8 mg | Boden N III 7. + 215,1 mg

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Remy, *Unters. üb. d. Stickstoffsammlungsvorgänge in ihrer Beziehung zum Bodenklima.*

Erläuterung: Die Tafel zeigt das Verhalten der zu Versuch 6 benutzten Bodenarten bei Beginn des Versuches.



Moorboden I. Moorboden II. Quarzsand.



Rheintalsand. Kaolin. Tonboden.



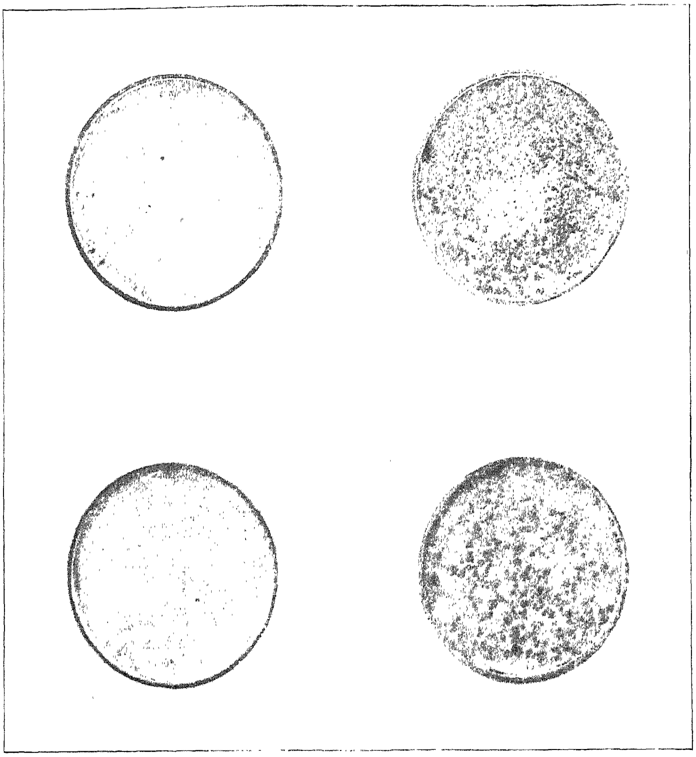
Tonboden. Versuchsfeldboden von N III 2. Impferde von N III 7.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena**.

***Remy**, Unters. üb. d. Stickstoffsammlungsvorgänge in ihrer Beziehung zum Bodenklima.*

Erläuterung: Die Tafel kennzeichnet das Verhalten der auf Tafel VII verzeichneten Böden beim Versuchsabschluß. Die mg-Ziffern geben den Stickstoffgewinn für 1 kg Trockenerde an.

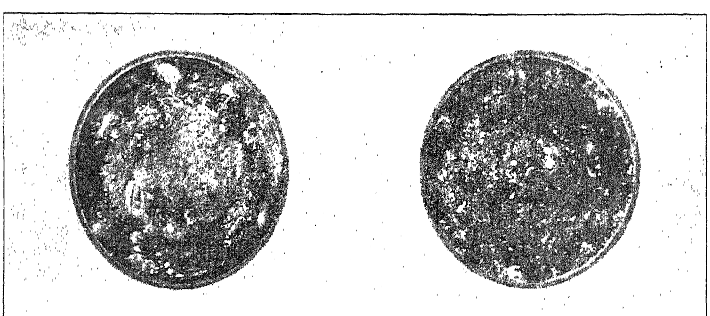
LV. — 1087 ± 276 mg   LVII. — 1655 ± 240 mg



Moorboden I.

Moorboden II.

LVI. — 1627 ± 162 mg   LXIII. — 1800 ± 211 mg

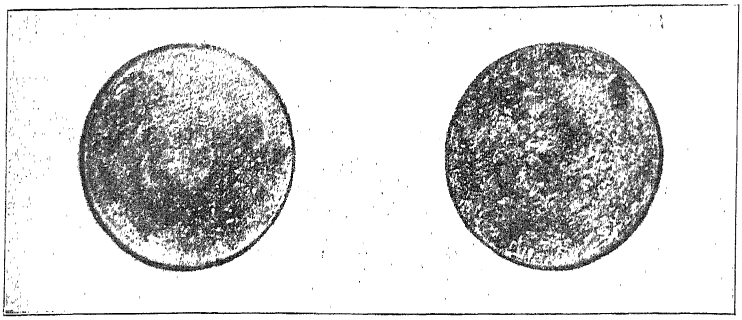


Quarzsand

LVII. + 74,5 ± 7,3 mg   LXIV. + 69,5 ± 7,8 mg

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

(Forts. von Taf. VIII).



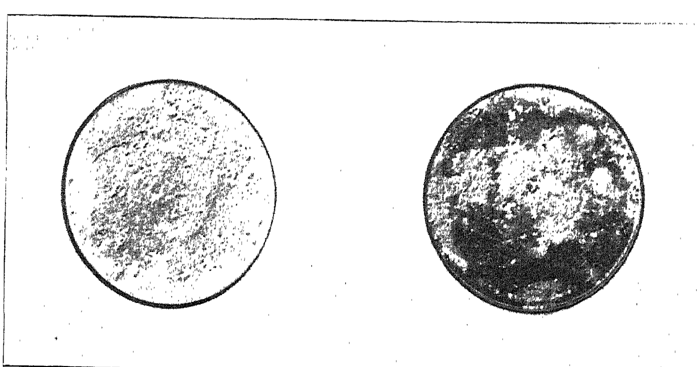
Rheintalsand

LVIII. + 92,5 ± 6,2 mg LXV. + 87,5 ± 4,5 mg



Kaolin.

LIX. + 126,0 ± 11,7 mg LXVI. + 208,0 ± 11,7 mg

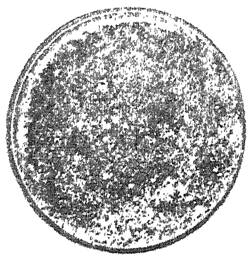


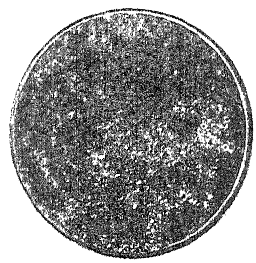
Tonboden.

LX. — 26,5 ± 12,2 mg LXVII. + 140,0 ± 12,5 mg

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

(Noch Forts. von Taf. VIII).



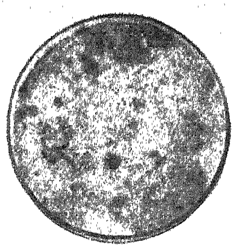


Versuchsfeldboden N III 2.

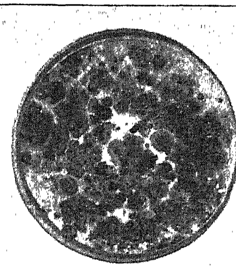
LXI. + 106,0 ± 8,7 mg

LXVIII. + 138,0 ± 5,7 mg

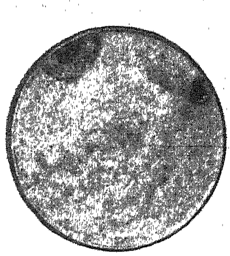
Erläuterung: Kalkplattenbilder von 4 mit rohem Boden geimpften Kalkplatten. Herkunft bezw. Art der zur Impfung benutzten Böden sind unter dem Bilde angegeben.



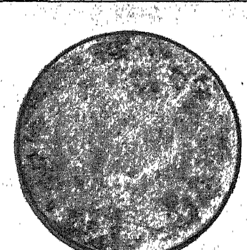
I. Karow.
+ 17,4 ± 8,3 mg



II. Versuchsfeldboden.
+ 193,4 ± 11,1 mg



III. Moorboden.
— 582 ± 85,1 mg



IV. Rheintalsand.
+ 3,1 ± 6,6 mg

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

suchsreihen der Beete N III2 (ungedüngt) und N III7 (Volldüngung ohne Stickstoff) umfassend. Die bei der 1. Untersuchung erhaltenen Vegetationsbilder auf Kalkplatten, die in Tabelle XV charakterisiert sind, lassen deutlich Aenderungen gegenüber dem Ausgangsmaterial erkennen, denn:

a) unter dem Einflusse der Sublimatbehandlung ist jede Pilzvegetation mit Ausnahme von einigen wahrscheinlich aus der Luft stammenden Schimmeln (Aspergillus niger) in Reihe XXXV abgetötet;

b) durch Kraftquellenzusatz ist in Reihe XXXVII eine bedeutende Vermehrung der Azotobacter-Vegetation eingetreten.

Versuch 5.

Schon durch die vorigen Versuche ist wiederholt die Notwendigkeit eines angemessenen Kalk- und Magnesiagehaltes für eine starke Stickstoffsammlung erwiesen. Dieser Versuch sollte insbesondere über die Einwirkung steigender Kalkmengen auf die Stickstoffsammlung und die Azotobacter-Entwickelung Aufschluß geben. Als Ausgangsmaterial fanden der zu den Versuchen 1 und 2 benutzte und dort zur Genüge gekennzeichnete Rheintalsand und reines Calciumkarbonat Verwendung. Jener erhielt beim Versuchsbeginn 0,4 Proz. des Trockenbodens an Monokaliumphosphat. Dann wurde der Boden nach Maßgabe des nachfolgenden Versuchsplans mit dem Calciumkarbonat sorgsam vermischt. Vom Gemisch wurden je 500 g Trockensubstanz in Glasschalen gebracht und der nachstehend angegebenen Behandlung unterworfen:

Reihe	No. des Einzelversuches	Sonderbehandlung	
XLVII	92,93	0,1 Proz. CaO äquivalente Menge freier Säure (natürliche Säure + Zitronensäure)	Mannit als Kraftquelle
XLVIII	94,95	Boden neutralisiert mit $CaCO_3$	
XLIX	96,97	0,5 Proz. $CaCO_3$ + 99,5 Proz. Rheintalsand	
L	98,99	1 „ $CaCO_3$ + 99 „ „	
LI	100,101	5 „ $CaCO_3$ + 95 „ „	
LII	102,103	25 „ $CaCO_3$ + 75 „ „	
LIII	104,105	50 „ $CaCO_3$ + 50 „ „	
LIV	106,107	0,5 „ $CaCO_3$ + 99,5 „ „ 2 „ organische Substanz von Rapsblättern	

Hinzu trat gleichmäßig in allen Reihen 1 Proz. des Trockenbodens an azotobacterreicher Impferde von N III 7 (siehe Tab. XI und Taf. IV). Für die Beschaffenheit der zum Versuch benutzten Materialien gibt die nachfolgende Zahlenreihe Anhaltspunkte:

1) Säuregehalt des Bodens vom Tannenbusch = 0,051 Proz. CaO äquivalente Menge Säure im Trockenboden
2) Stickstoffgehalt des Bodens vom Tannenbusch = 0,0185 Proz. im Trockenboden
3) CaO-Wert des $CaCO_3$ = 55,08 „
4) Stickstoffgehalt des $CaCO_3$ = ohne Stickstoff
5) Stickstoffgehalt der Rapsblätter = 5,98 ± 0,0047 Proz.
6) Stickstoffgehalt des Impfbodens = 0,073 ± 0,00022 Proz.
7) Stickstoffgehalt der Mannitlösung = stickstofffrei.

Die Reihen XLVII bis LIII erhielten als Kraftquelle 2 Proz. Mannit in wässeriger Lösung, und zwar in 4 Portionen zu je 0,5 Proz. bei

Tabelle XVII[1]). Versuch 5.

Reihe No.	Sonderbehandlung	Einzelversuch No.	Stickstoffgehalt pro 1 kg Trockenboden: beim Versuchsbeginn mg	Stickstoffgehalt pro 1 kg Trockenboden: am 16. März 1908 mg	Stickstoffgewinn (+) bezw. -verlust (—) in mg: pro 1 kg Boden	Stickstoffgewinn (+) bezw. -verlust (—) in mg: pro 1 g Mannit bezw. Rapsblätter-Trockensubstanz	Stickstoff in 1 kg Trockenboden am 23. April mg	Stickstoffgewinn (+) bezw. -verlust (—) in mg: pro 1 kg Boden	Stickstoffgewinn (+) bezw. -verlust (—) in mg: pro 1 g Kraftquelle	Basizität (+) oder Azidität (—) CaO-Aequivalent für Trockenboden Proz.
XLVII	Rheintalsand mit 0,1 Proz. CaO äquivalenter Menge freier Säure	92	188 ± 3,2	174 ± 4,3	— 14 ± 5,4	.	287 ± 4,5	+ 99 ± 5,5	3,3	± 0
		93	188 ± 3,2	180 ± 4,3	— 8 ± 5,4	.	292 ± 4,5	+ 104 ± 5,5	3,5	
XLVIII	Rheintalsand mit $CaCO_3$ neutralisiert	94	188 ± 3,2	186 ± 4,3	— 2 ± 5,4	.	418 ± 4,5	+ 230 ± 5,5	7,7	+ 0,039
		95	188 ± 3,2	206 ± 4,3	+ 18 ± 5,4	0,9	423 ± 4,5	+ 233 ± 5,5	7,8	
XLIX	Gemisch von 99,5 Proz. Rheintalsand + 0,5 Proz. $CaCO_3$	96	186 ± 3,2	304 ± 4,3	+ 118 ± 5,4	5,9	451 ± 4,5	+ 265 ± 5,5	8,8	—
		97	186 ± 3,2	320 ± 4,3	+ 134 ± 5,4	6,7	445 ± 4,5	+ 259 ± 5,5	8,6	
L	Gemisch von 99,0 Proz. Rheintalsand + 1,0 Proz. $CaCO_3$	98	185 ± 3,0	320 ± 4,3	+ 135 ± 5,4	6,8	445 ± 4,5	+ 260 ± 5,5	8,7	—
		99	185 ± 3,0	309 ± 4,3	+ 124 ± 5,4	6,2	445 ± 4,5	+ 260 ± 5,5	8,7	
LI	Gemisch von 95 Proz. Rheintalsand + 5 Proz. $CaCO_3$	100	172 ± 2,8	320 ± 4,3	+ 148 ± 5,4	7,4	445 ± 4,5	+ 273 ± 5,5	9,1	—
		101	172 ± 2,8	309 ± 4,3	+ 137 ± 5,4	6,9	440 ± 4,5	+ 268 ± 5,5	8,9	
LII	Gemisch von 75 Proz. Rheintalsand + 25 Proz. $CaCO_3$	102	111 ± 1,8	231 ± 4,3	+ 120 ± 5,4	6,0	456 ± 4,5	+ 345 ± 5,5	11,5	—
		103	111 ± 1,8	214 ± 4,3	+ 103 ± 5,4	5,2	451 ± 4,5	+ 340 ± 5,5	11,3	
LIII	Gemisch von 50 Proz. Rheintalsand + 50 Proz. $CaCO_3$	104	26 ± 0,4	163 ± 4,3	+ 137 ± 5,4	6,9	366 ± 4,5	+ 341 ± 5,5	11,4	—
		105	26 ± 0,4	163 ± 4,3	+ 137 ± 5,4	6,9	354 ± 4,5	+ 329 ± 5,5	11,0	
LIV	Wie XLIX, jedoch 2 Proz. Rapsblätter-Trockensubstanz an Stelle von Mannit	106	1430 ± 3,2	822 ± 4,3	— 608 ± 5,4	.	687 ± 4,5	— 743 ± 5,5	.	—
		107	1430 ± 3,2	816 ± 4,3	— 614 ± 5,4	.	680 ± 4,5	— 750 ± 5,5	.	

1) Analytische Belege in Anhangstabellen XVIIa bis XVIIc.

Beginn des Versuches, am 25. Febr., am 3. und 10. März. Um den Phosphorsäuregehalt in allen Reihen auf die gleiche Höhe zu bringen, wurden nach dem Ansetzen jeder Schale in Reihe LI = 0,09 g Phosphorsäure, in Reihe LII = 0.46 g Phosphorsäure und in Reihe LIII = 0,92 g Phosphorsäure als Monocalciumphosphat gegeben. Der Wassergehalt wurde während der Versuchsdauer auf 50 Proz. der nach Wahnschaffe ermittelten vollen Wasserkapazität, die bei Sand rund 30, bei $CaCO_3$ rund 44 Proz. betrug, erhalten. Die Böden standen mit Glasplatten bedeckt bei 20 bis 25° C im Dunkelraum zunächst vom 18. Febr. bis zum 16. März. An diesem Tage wurde die Hälfte des Schaleninhaltes untersucht. Die zweite Hälfte sämtlicher Reihen blieb unter unveränderten Außenbedingungen und nachdem mit Ausnahme der Reihe LIV, am 20. März erneut 0,25 Proz., am 28. März 0,75 Proz., zusammen also 1 Proz. und unter Zuziehung der vor der ersten Untersuchung gegebenen Menge = 3,0 Proz. Mannit als Kraftquelle zugesetzt waren, bis zu dem am 23. April erfolgten Abschluß des Versuches stehen. Störungen kamen bei der Versuchsdurchführung nicht vor. Das Ergebnis ist in Tabelle XVI und den Anhangstabellen XVIa bis XVIc zusammengestellt.

Von einer Untersuchung in Beijerinckscher Mannitlösung und auf Kalkplatten ist angesichts der großen Durchsichtigkeit der zahlenmäßigen Versuchsergebnisse Abstand genommen. Mit unverkennbarer Deutlichkeit zeigt sich besonders, daß der Kalkgehalt auf die Stärke der Stickstoffsammlung zunächst keinen bestimmenden Einfluß mehr ausübt, sobald erst der Neutralisationspunkt des Bodens erreicht ist. Nur die zweite Untersuchung zeigt eine bescheidene Ueberlegenheit des zu 25 und 50 Proz. aus $CaCO_3$ bestehenden Substrates. Die Frage, ob es sich um eine spezifische Kalkkarbonatwirkung oder um die Folgeerscheinung des bedeutend geringeren Stickstoffgehaltes der kalkreichen Nährböden handelt, wird später zu erörtern sein. Der Vergleich der ersten und zweiten Untersuchung beweist ein dem Kraftquellenzusatz entsprechendes Fortschreiten der Stickstoffsammlung. Wie bedeutend diese Stickstoffsammlung im Vergleich zu der ursprünglich im Boden vorhandenen Stickstoffmenge sein kann, ergibt sich aus den für die Reihen LII und LIII ermittelten Zahlen, welche dort eine Vervierfachung, hier sogar mehr als Verzehnfachung des ursprünglichen Stickstoffgehaltes erkennen lassen.

Versuch 6.

In einer früher schon erwähnten Arbeit „Studien über die Stickstoffsammlung" berichtet Dr. Ph. Schneider[1]) über einen Versuch, aus dem hervorgehen soll, daß die mechanischen Bodenkonstituenten einen selektiven Einfluß auf die im Boden lebenden stickstoffsammelnden Mikroorganismen ausüben. Die Frage, ob es sich um einen unmittelbaren Einfluß der Bodengerüstteile oder um eine mittelbare Wirkung von chemisch-aktiven Begleitbestandteilen dieser handelt, wird zwar nicht klar entschieden. Doch scheint Schneider einen direkten Einfluß anzunehmen; denn er sagt: „Das Kaolin schien besonders für Schimmel ein bevorzugter Boden zu sein, was wohl nur zum Teil auf die neutrale Reaktion zurückzuführen ist, da der Sand gleichfalls neutral reagierte, aber keine Schimmelbildung erkennen ließ." Zur Klarstellung wurde

1) Landw. Jahrbücher 1906. Ergänzungsband IV.

Tabelle XVII[1])

Versuchs-reihe No.	Bodenart	Sonder-behandlung	Schaleninhalt an Trockensubstanz g: Boden	Impferde	$CaCO_3$	Zusammen[2])	Schaleninhalt an Stickstoff mg: im Boden	in der Impferde[3])	Zusammen
LV	Moorboden I		92,0	1,8	.	93,8	1663,36 ± 70,0	1,33	1664,69
LVI	Moorboden II		106,2	1,8	.	108,0	2325,16 ± 70,0	1,33	2326,49
LVII	Quarzsand		500,0	4,5	.	504,5	28,50 ± 1,8	3,33	31,83
LVIII	Rheintalsand		488,9	4,5	.	493,4	83,11 ± 2,8	3,33	86,44
LIX	Kaolin	Natürliche Reaktion	475,0	4,5	.	479,5	47,98 ± 0,0	3,33	51,31
LX	Tonboden		476,9	4,5	.	481,4	174,07 ± 3,0	3,33	177,40
LXI	Versuchsfeld-boden von N III 2		487,8	4,5	.	492,2	382,44 ± 2,8	3,33	385,77
LXII	Moorboden I		92,0	1,8	1,62	95,4	1663,36 ± 70,0	1,33	1664,69
LXIII	Moorboden II		106,2	1,8	1,95	110,0	2325,16 ± 70,0	1,33	2326,49
LXIV	Quarzsand		500,0	4,5	4,38	508,9	28,50 ± 1,8	3,33	31,83
LXV	Rheintalsand	Mit $CaCO_3$ auf + 0,5 Proz. CaO Wert in der Trocken-substanz gebracht	488,9	4,5	4,55	498,0	83,11 ± 2,8	3,33	86,44
LXVI	Kaolin		475,0	4,5	4,45	484,0	47,89 ± 0,0	3,33	51,31
LXVII	Tonboden		476,9	4,5	4,55	486,0	174,07 ± 3,0	3,33	177,40
LXVIII	Versuchsfeld-boden von N III 2		487,8	4,5	4,00	496,6	382,44 ± 2,8	3,33	385,77

ein Versuch durchgeführt, bei dem einerseits die Wirkung roher Bodengemengteile, andererseits deren Wirkung nach vorheriger Neutralisation, Nährsalz- und Kraftquellenzusatz Gegenstand der Ermittelung war. Die zu dem Versuch bestimmten Materialien wurden vor der Benutzung gesiebt, bakteriologisch in Beijerinckscher Mannitlösung und auf Kalkplatten, chemisch auf Stickstoffgehalt und Reaktion untersucht. Sämtliche Versuchsböden mit Ausnahme des als Impferde verwendeten Bodens von Parzelle N III 7 erwiesen sich beim Versuchsbeginn azotobacterfrei (siehe Taf. VII) und riefen auch in Beijerinckscher Mannitlösung keine Stickstoffsammlung hervor. Am 15. Juni wurden die Böden lufttrocken

1) Belege in den Anhangstabellen XVIII a und XVIII b.
2) Außerdem überall 2 Proz. der Trockensubstanz an Mannit.
3) Fehler ± 0,02 mg kann seiner Geringfügigkeit wegen außer Betracht bleiben.

Versuch 6.

Stickstoff in 1 kg trockenem Schaleninhalt beim Versuchsbeginn mg	Einzelversuch No.	Stickstoff in 1 kg trockenem Schaleninhalt beim Versuchsabschluß mg	Stickstoffgewinn (+) oder -verlust (—) mg pro 1 kg Schaleninhalt	Stickstoffgewinn (+) oder -verlust (—) mg pro 1 g Mannit	Alkalität (+) oder Azidität (—) in CaO-Aequivalent f. Trockenboden beim Versuchsabschluß Proz.	Stickstoffgewinn in Beijerinckscher Mannitlösung für 1 g Mannit mg
17 747	108	16 210 ± 247,0	— 1537 ± 257,0	.	± 0,043	+ 2,1
	109	17 100 ± 256,0	— 637 ± 295,0	.	± 0,098	
21 542	110	20 200 ± 183,0	— 1342 ± 196,0	.	— 0,086	+ 2,1
	111	19 630 ± 106,0	— 1912 ± 127,0	.	— 0,161	
63	112	134 ± 5,5	+ 71 ± 5,8	+ 3,6	± 0	+ 6,9
	113	141 ± 8,5	+ 78 ± 8,7	+ 3,9	+ 0,017	
175	114	264 ± 5,5	+ 89 ± 6,2	+ 4,5	± 0	+ 7,4
	115	271 ± 5,5	+ 96 ± 6,2	+ 4,8	± 0	
107	116	333 ± 11,7	+ 126 ± 11,7	+ 6,3	+ 0,014	+ 6,5
	117	333 ± 11,7	+ 126 ± 11,7	+ 6,3	± 0	
368	118	338 ± 10,0	— 30 ± 10,4	.	— 0,035	+ 8,6
	119	345 ± 13,5	— 23 ± 13,8	.	— 0,014	
784	120	890 ± 8,1	+ 116 ± 8,6	+ 5,8	+ 0,089	+ 10,0
	121	870 ± 8,8	+ 96 ± 8,7	+ 4,8	+ 0,087	
17 450	122	15 810 ± 202,0	— 1640 ± 214,0	.	+ 0,480	+ 10,6
	123	15 780 ± 256,0	— 1670 ± 265,0	.	+ 0,600	
21 150	124	19 190 ± 198,0	— 1960 ± 211,0	.	+ 0,538	+ 6,9
	125	19 510 ± 198,0	— 1640 ± 211,0	.	+ 0,471	
63	126	135 ± 5,5	+ 72 ± 5,8	+ 3,6	+ 0,451	+ 8,6
	127	130 ± 9,5	+ 67 ± 9,7	+ 3,4	+ 0,429	
174	128	275 ± 0,0	+ 101 ± 2,8	+ 5,1	+ 0,535	+ 5,2
	129	248 ± 5,5	+ 74 ± 6,2	+ 3,7	+ 0,509	
106	130	322 ± 11,7	+ 216 ± 11,7	+ 10,8	+ 0,435	+ 4,6
	131	306 ± 11,7	+ 200 ± 11,7	+ 10,0	+ 0,439	
365	132	512 ± 14,5	+ 147 ± 14,8	+ 7,3	+ 0,454	+ 7,7
	133	498 ± 9,7	+ 133 ± 10,2	+ 6,7	+ 0,477	
777	134	910 ± 7,0	+ 133 ± 7,5	+ 6,7	+ 0,572	+ 6,2
	135	920 ± 2,5	+ 143 ± 3,8	+ 7,2	+ 0,578	

zu 500 g in Schalen gebracht, mit 1 Proz. Impferde von N III 7 versetzt und dann der in Tab. XVII angegebenen Sonderbehandlung unterworfen. Bei den 2 Moorböden mußte die Bodenmenge mit Rücksicht auf den Fassungsraum der Schalen auf 200 g lufttrockene Masse beschränkt werden. Als Kraftquelle fand reine Mannitlösung Verwendung, von der insgesamt 2 Proz. der Trockenerde in 2 Gaben zu 1 Proz. am 15. und 23. Juni gegeben wurden. An Nährsalzen erhielten je 100 g Bodentrockensubstanz 0,3 g $K_2HPO_4 + 0{,}2$ g $MgSO_4$, 7 aq. Der Wassergehalt wurde auf etwa 75 Proz. der nach Wahnschaffe bestimmten Kapazität des Bodens erhalten. Die Temperatur schwankte während der Versuchsdauer zwischen 20 und 23° C. Am 21. Juli wurde der Versuch nach 36-tägigem störungslosen Verlauf abgebrochen. Die Schlußergebnisse sind in Tab. XVII, die analytischen Belege in den Anhangstab. XVIIa

und XVII b zusammengestellt. Die Taf. VIII, IX und X (obere Reihe) geben das Aussehen der beim Schluß des Versuchs durch Impfen mit Boden erhaltenen Kalkplattenbilder wieder.

Tabelle XVIII. Zu Versuch 7.

a) Untersuchung des Ausgangsmaterials von

Untersuchte Substanz	Angew. Tr. S. g	Verbrauch an Titerlauge in $^1/_{100}$ ccm (1 ccm = 2,09 mg N) a	b	c	d	e	f	Mittel	Mittlerer Fehler des Mittels	Entsprechend Stickstoff in der angew. Substanz mg	In der Tr. S Stickstoff Proz.
1. Boden	18,97	870	860	860	870	880	870	868	± 3,07	18,14 ± 0,06	0,0956
2. Dextrose	2,00	120	120	120	120	.	.	120	± 0	2,51 ± 0	0,1250
3. Mannit	2,00	10	10	.	.	.	.	.	.	0,219	0,0104

Kalkwert des $CaCO_3$ = 55,48 Proz.
Alkalität (+) oder Azidität (—) in Proz. CaO-Wert:

a) Mannit + 0,0143 Proz.
b) Dextrose + 0,0059 „
c) Boden + 0,0957 „

b) Einfuhrnachweis — c) Schlußuntersuchung nach 28-tägiger

Versuchsreihe No.	Sonderbehandlung	Einfuhr pro Versuch in g: Trockenboden	CaCO$_3$	Zusammen	Einfuhr an N pro Einzelversuch in mg: im Boden	im $CaCO_3$	in der Kraftquelle	Zusammen	Stickstoff pro 1 kg Boden in mg	Einzelversuch No.	Zur N-Bestimmung angew. Bodenmenge Trockensubstanz g	Verbrauch von Titerlauge in $^1/_{100}$ ccm (1 ccm = 2,09 mg N) a	b	e	Mittel	mittlerer Fehler des Mittels
LXIX	Ohne	500	.	500	478,0	.	.	478,0	956	136	19,37	940	940	940	940	± 0,0
										137	19,30	940	940	940	940	± 0,0
LXX	2 Proz. Mannit	500	.	500	478,0	.	1,0	479,0	958	138	18,84	990	990	1000	993	± 3,34
										139	19,17	980	980	990	983	± 3,34
LXXI	2 Proz. Dextrose	500	.	500	478,0	.	12,5	490,5	981	140	19,02	960	960	960	960	± 0,0
										141	18,93	960	960	970	967	± 4,32
LXXII	1 Proz. Mannit	500	.	500	478,0	.	6,8	484,8	970	142	19,0	960	960	970	963	± 3,34
	1 Proz. Dextrose									143	18,76	950	950	950	950	± 0,0
LXXIII	Kalk	490	10	500	468,4	.	.	468,4	937	144	19,26	950	940	950	947	± 3,34
										145	19,40	960	950	960	957	± 3,34
LXXIV	Kalk +	490	10	500	468,4	.	1,0	469,4	939	146	18,95	1030	1040	1050	1040	± 5,77
	2 Proz. Mannit									147	18,78	1050	1030	1040	1040	± 5,77
LXXV	Kalk +	490	10	500	468,4	.	12,5	480,9	962	148	19,15	990	990	1000	993	± 3,34
	2 Proz. Dextrose									149	18,94	980	990	1000	990	± 5,77
LXXVI	Kalk +	490	10	500	468,4	.	6,8	475,2	950	150	19,04	1090	1090	1090	1090	± 0,0
	1 Proz. Mannit									151	19,02	1090	1080	1090	1087	± 3,34
	1 Proz. Dextrose															
	Mittl. Fehler in mg Stickstoff				±1,6		±0	±1,6	±3,2							

Versuch 7.

In der Regel haben die vorhergehenden Versuche eine Begünstigung der Stickstoffsammlung durch Zusatz von kohlensaurem Kalk zum Boden ergeben. Doch war die Wirkung des Kalkes ebenso wie bei den von verschiedenen Seiten vorliegenden älteren Beobachtungen durchaus nicht in allen Fällen gleichmäßig oder nur gleichsinnig. Es liegt nahe, in der Form der Kraftquelle eine der für diese Verschiedenheiten maßgebenden Ursachen zu suchen. Je universaler die Kraftquelle, um so größer die Zahl der Bodenbakterien, welche ihren Anteil haben wollen. Eine den besonderen Bedürfnissen der Stickstoffsammler angepaßte, aber exklusive Kraftquelle hingegen wird den Wettbewerb der übrigen Bodenorganismen von vornherein einschränken. Bei Verwendung einer universalen Kraftquelle wird der durch $CaCO_3$-Zusatz bewirkte Ausschluß der kalkempfindlichen Bakterien den sehr kalkverträglichen Azotobacter-Arten nützlicher sein als bei Darbietung exklusiver Kraftquellen. Ueber die Richtigkeit dieses Gedankenganges sollte ein Versuch entscheiden, zu welchem Ackerkrume der uns bekannten Versuchsfeldparzelle N III 1, vermischt mit 2 Proz. Impferde von N III 7, Verwendung fand. Das durch Sieben von gröberen Bestandteilen befreite Gemisch wurde nach Zusatz von 0,05 Proz. KH_2PO_4 in große bedeckte Glasschalen gebracht. Energiequelle und Calciumkarbonat wurden nach Maßgabe des Versuchs-

am 21. Sept. 1908 Versuchsdauer				d) Bilance: Stickstoffgewinn während des Versuches in mg			
Stickstoff			Alkalität (+) oder Azidität (—) in Proz. CaO-Wert für Trockenboden	pro 1 kg Trockenboden	pro 1 g Kraftquelle		Etwaige Bemerkungen
in der angew. Bodenmenge mg	der Bodentrockensubstanz in Proz.	in 1 kg Trockenboden mg			insgesamt	Nach Abzug des Gewinns in d. zugehörigen Reihe ohne Kraftquelle	
19,64 ± 0,0	0,1014	1014	± 0,00	+ 58 ± 4,9	.	.	
16,64 ± 0,0	0,1016	1016	± 0,00	+ 60 ± 4,9	.	.	
20,75 ± 0,07	0,1101	1101	+0,0266	+ 143 ± 4,9	+ 7,2	+ 4,2	Mässiger Geruch nach Buttersäure
20,54 ± 0,07	0,1070	1070	+ 0,0262	+ 112 ± 4,9	+ 5,6	+ 2,7	
20,06 ± 0,0	0,1057	1057	+ 0,0179	+ 76 ± 4,9	+ 3,8	+ 0,9	Starker Buttersäuregeruch
20,21 ± 0,9	0,1068	1068	+ 0,00	+ 87 ± 4,9	+ 4,3	+ 1,4	
20,13 ± 0,07	0,1060	1060	+ 0,0176	+ 90 ± 4,9	+ 4,5	+ 1,6	
19,85 ± 0,0	0,1058	1058	+ 0,0179	+ 88 ± 4,9	+ 4,4	+ 1,5	
19,79 ± 0,07	0,1027	1027	+ 1,15	+ 90 ± 4,9	.	.	
20,00 ± 0,07	0,1030	1030	+ 1,15	+ 93 ± 4,9	.	.	
21,73 ± 0,12	0,1147	1147	+ 1,77	+ 208 ± 4,9	+10,4	+ 5,8	
21,73 ± 0,12	0,1157	1157	+ 1,18	+ 218 ± 4,9	+10,9	+ 6,3	
20,75 ± 0,07	0,1083	1083	+ 1,20	+ 121 ± 4,9	+ 6,1	+ 1,5	
20,69 ± 0,12	0,1092	1092	+ 1,21	+ 130 ± 4,9	+ 6,5	+ 1,9	
22,78 ± 0,0	0,1196	1196	+ 1,25	+ 246 ± 4,9	+12,3	+ 7,7	
22,71 ± 0,07	0,1194	1194	+ 1,25	+ 244 ± 4,9	+12,2	+ 7,6	
± 0,07		± 3,7					

planes in einer Gabe beim Versuchsbeginn gegeben. Der Versuchsplan folgt nachstehend:

Versuchs-reihe No.	Einzel-versuche No.	Pro Schale verwendet in g		
		Trockenboden	$CaCO_3$	Kraftquelle
LXIX	136, 137	500	—	—
LXX	138, 139	500	—	10 g Mannit
LXXI	140, 141	500	—	10 g Dextrose
LXXII	142, 143	500	—	5 g Mannit + 5 g Dextrose
LXXIII	144, 145	490	10	—
LXXIV	146, 147	490	10	10 g Mannit
LXXV	148, 149	490	10	10 g Dextrose
LXXVI	150, 151	490	10	5 g Mannit + 5 g Dextrose

Während des Versuches standen die Glasschalen bei einer zwischen 23 und 25° C liegenden Temperatur im Thermostaten. Der Wassergehalt wurde beim Versuchsbeginn auf 20 Proz. gebracht und tunlichst auf dieser Höhe erhalten. Der störungslos verlaufene Versuch dauerte vom 24. Aug. bis 21. Sept., umfaßt also 28 Tage. Die gesamten Ergebnisse sind in Tab. XVIII niedergelegt.

IV. Zusammenfassender Rückblick auf das Ergebnis der Versuche 1—7.

1. Die Fehlergröße der Methode.

Vorausschickend mögen zunächst die Grenzen, innerhalb deren die Veränderungen im Stickstoffgehalte der Böden bei der gewählten Versuchsmethodik bestimmbar bleiben, gekennzeichnet werden. Zu dem Zwecke ist den analytischen Belegen der nach der Formel $m = \sqrt{\frac{[vv]}{(n-1)\,n}}$ (vv = Summe der Fehlerquadrate, n = Zahl der unabhängigen Beobachtungen) berechnete mittlere Fehler der Versuchsreihen regelmäßig beigefügt. Derselbe erreicht auch bei Verwendung gleicher Bodenmengen versuchs- und reihenweise eine verschiedene Höhe. Um diese rein zufälligen, in geringer Beobachtungszahl begründeten Verschiedenheiten auszugleichen, ist innerhalb der einzelnen Versuche der mittlere Fehler m_x für alle Reihen nach der Formel $m_x = \sqrt{\frac{(vv)}{n}}$ berechnet, wobei vv die Summe der Quadrate der Abweichungen vom arithmetischen Mittel und n die Reihenzahl bedeutet. Der so gefundene Wert ist für alle zu einem Versuch gehörigen Reihen, die mit derselben Bodenart durchgeführt und soweit zur Stickstoffbestimmung dieselbe Bodenmenge verwendet ist, in Rechnung gestellt.

Der Stickstoffgewinn während des Versuches ergibt sich als Resultierende aus Stickstoffeinfuhr und Stickstoffausfuhr, schließt also einen Fortpflanzungsfehler für mindestens 2 unabhängige Zahlenwerte in sich. Dieser ist ist nach der Formel $\sqrt{m_1^2 + m_2^2 + m_3^2}$ berechnet und der Stickstoffbilanzschlußzahl in den Uebersichtstabellen regelmäßig beigefügt.

Um wenigstens eine allgemeine Vorstellung von der methodischen Genauigkeit unserer Versuche zu geben, sei erwähnt, daß der mittlere

Tabelle XIX.

Versuchsreihe	Stickstoffsammlung in mg — durch Bodenanalyse direkt nachgewiesen — auf 1 kg Trockenboden	auf 1 g zugesetzter Kraftquelle	auf 1 g Mannit in geimpfter Beijerinckscher Lösung	Kurze Beschreibung des Vegetationsbildes auf mit Boden geimpfter Kalkplatte	Bemerkungen
			Versuch 1, Tabelle XII.		
I 2	+ 99,8 ± 4,0	+ 5,3	+ 5,3	Dünner, geschlossener Azotobacter-Rasen	—
II 3	+ 132,4 ± 3,9	+ 7,0	+ 6,4	Kräftiger, schwarzbrauner Azotobacter-Rasen	—
II 4	+ 95,1 ± 4,0	+ 5,0	+ 6,3	Desgl.	—
III 5	+ 3,4 ± 3,9	+ 0,2	+ 2,2	Ohne sichtbare Bakterienentwickelung	—
III 6	+ 133,7 ± 4,0	+ 7,1	+ 8,1	Dünner, geschlossener Azotobacter-Rasen	—
IV 7	+ 126,9 ± 3,9	+ 6,8	+ 7,9	Kräftiger, geschlossener Azotobacter-Rasen	—
IV 8	+ 99,0 ± 4,0	+ 5,3	+ 6,7	Dünner, geschlossener Azotobacter-Rasen	—
V 10	+ 42,1 ± 4,0	+ 2,2	+ 6,7	Desgl.	—
VI 11	+ 62,0 ± 3,9	+ 3,3	+ 7,2	Kräftiger, schwarzbrauner Azotobacter-Rasen	—
VI 12	+ 19,1 ± 4,0	+ 1,0	+ 8,9	Dünner, geschlossener Azotobacter-Rasen	—
VII 14	+ 16,8 ± 4,0	+ 0,9	+ 5,1	Kleine, inselförmige Einzelkolonieen	—
VIII 16	+ 23,6 ± 4,0	+ 1,3	+ 1,5	Ohne sichtbare Bakterienentwickelung	—
IX 17	+ 19,6 ± 3,9	+ 1,0	+ 2,1	Desgl.	—
XI 18	+ 32,5 ± 4,0	+ 1,7	+ 1,5	Kleine, inselförmige Einzelkolonieen	—
X 20	+ 77,4 ± 4,2	+ 4,1	+ 5,3	Dünner, geschlossener Azotobacter-Rasen	Stickstoffbilanz durch Stickstoffverluste des zugesetzten Rinderkots verschleiert
XI 22	+ 56,0 ± 4,0	+ 3,0	+ 8,3	Mäßig starker, geschlossener Azotobacter-Rasen	—
XII 23	+ 82,5 ± 4,1	+ 4,4	+ 8,6	Desgl.	Stickstoffbilanz durch Stickstoffverluste des zugesetzten Rinderkots verschleiert
XII 24	+ 115,2 ± 4,0	+ 6,1	+ 7,2	Desgl.	Desgl.
XIII 26	+ 46,5 ± 4,0	+ 2,5	+ 7,8	Dünner, geschlossener Azotobacter-Rasen	—
XIV 27	+ 3,0 ± 4,0	.	+ 2,1	Inselförmige Einzelkolonieen	Boden ohne Kraftquelle, daher kein analytisch nachweisbarer Gewinn an Stickstoff
XV 29	— 59,0 ± 4,2	.	+ 7,5	Desgl.	Desgl. Außerdem ist die Stickstoffbilanz durch Verluste aus dem Rinderkot verschleiert

Tabelle XIX.

Versuchsreihe	Stickstoffsammlung in mg: durch Bodenanalyse direkt nachgewiesen: auf 1 kg Trockenboden	Stickstoffsammlung in mg: durch Bodenanalyse direkt nachgewiesen: auf 1 g zugesetzter Kraftquelle	Stickstoffsammlung in mg: auf 1 g Mannit in geimpfter Beijerinckscher Lösung	Kurze Beschreibung des Vegetationsbildes auf mit Boden geimpfter Kalkplatte	Bemerkungen
Versuch 2, Tabelle XIII.					
XVI	+ 8,2 ± 6,3	.	+ 1,7	Ohne sichtbare Bakterienentwickelung	Boden ohne Kraftquelle, daher kein sicherer Stickstoffgewinn
XVII	112,8 ± 6,3	+ 5,6	+ 2,3	Inselförmige Einzelkolonieen	—
XVIII	— 20,4 ± 6,4	.	+ 6,7	Inselförmige Einzelkolonieen fast zusammenfließend	Stickstoffbilanz durch Stickstoffverluste aus dem zugesetzten Stallmist verschleiert
XIX	7,9 ± 6,3	+ 0,4	+ 1,7	Ohne sichtbare Bakterienentwickelung	—
XX	14,4 ± 6,3	.	+ 2,2	Desgl.	Boden ohne Kraftquelle, daher kein sicherer Stickstoffgewinn
XXI	224,1 ± 6,3	+ 11,2	+ 6,8	Kräftiger, schwarzbrauner Azotobacter-Rasen	—
XXII	— 26,6 ± 6,4	.	+ 2,7	Ohne sichtbare Bakterienentwickelung	Stickstoffbilanz durch Stickstoffverlust aus dem zugesetzten Stallmist verschleiert
XXIII	154,9 ± 6,3	+ 7,8	+ 6,8	Mäßig starker, geschlossener Azotobacter-Rasen	—
XXIV	215,1 ± 6,3	+ 10,8	+ 7,5	Starker, schwarzbrauner Azotobacter-Rasen	—
XXV	85,8 ± 6,3	+ 4,3	+ 1,8	Mit ganz schwacher Azotobacter-Entwickelung	—
XXVI	31,0 ± 6,3	+ 1,6	+ 1,4	Desgl.	—
Versuch 3, Tabelle XIV.					
XXVII	17,6 ± 6,3	.	+ 7,3	Inselförmige, vielfach ineinander überfließende Einzelkolonieen	Boden ohne Kraftquelle; daher nur geringe Stickstoffsammlung
XXVIII	19,3 ± 6,3	.	+ 7,2	Desgl.	Desgl.
XXIX	25,3 ± 6,3	.	+ 7,8	Desgl.	Desgl.
XXX	115,9 ± 6,3	+ 5,6	+ 6,9	Starke, schwarzbraune Azotobacter-Haut	—
XXXI	189,0 ± 6,3	+ 9,5	+ 7,4	Desgl.	—

Versuchsreihe	Stickstoffsammlung in mg: durch Bodenanalyse direkt nachgewiesen: auf 1 kg Trockenboden	Stickstoffsammlung in mg: durch Bodenanalyse direkt nachgewiesen: auf 1 g zugesetzter Kraftquelle	Stickstoffsammlung in mg: auf 1 g Mannit in geimpfter Beijerinckscher Lösung	Kurze Beschreibung des Vegetationsbildes auf mit Boden geimpfter Kalkplatte	Bemerkungen
			Versuch 4, Tabelle XV.		
XXXV	11,4 ± 6,3	.	+ 1,1	Einige Kolonieen von Aspergillus niger, keine sichtbare Bakterienentwickelung	Boden durch Sublimat sterilisiert
XXXVI	21,2 ± 6,3	.	+ 3,1	Inselförmige, vielfach ineinander übergehende Einzelkolonieen	Boden ohne Kraftquelle, daher kein erheblicher Stickstoffgewinn
XXXVII	78,8 ± 6,3	+ 4,0	+ 6,2	Starker, schwarzbrauner Bakterienrasen	—
XLIV	21,9 ± 5,5	.	+ 0,5	Keine sichtbare Bakterienentwickelung	Boden durch Sublimat sterilisiert
XLV	48,7 ± 5,5	.	+ 6,8	Starker, schwarzbrauner Bakterienrasen	Boden ohne Kraftquelle, daher kein erheblicher Stickstoffgewinn
XLVI	215,1 ± 5,5	+ 10,8	+ 8,2	Desgl.	—

Fehler für alle Versuchsreihen, bei welchen 20 g Boden zur Stickstoffbestimmung benutzt sind, beträgt:

a) bei der beim Versuchsbeginn vorgenommenen Untersuchung mit 6 unabhängigen Einzelbestimmungen ± 0,095 mg Stickstoff für 20 g Boden,

b) bei den abschließenden Untersuchungen, die teils mit 6, teils mit 3 Einzelbestimmungen durchgeführt sind, ± 0,12 mg Stickstoff für 20 g Boden.

Aus dem berechneten mittleren Fehler für die Anfangs- und Schlußuntersuchung berechnet sich als Fortpflanzungsfehler nach der Formel $\sqrt{m_1^2 + m_2^2}$ ein Gesamtfehler von $\sqrt{0{,}009025 + 0{,}0144} = \pm 0{,}153$ mg Stickstoff für 20 g Boden. Als vergleichbare Einheit für die Berechnung der Stickstoffsammlung ist nachfolgend stets 1 kg Trockenboden benutzt. Für diese Menge würde der oben gefundene Fortpflanzungsfehler 50mal so groß sein, demnach auf 7,65 mg Stickstoff anschwellen, wobei der Wassergehalt des Analysenmaterials seiner Geringfügigkeit wegen außer Betracht bleiben mag. Setzt man als Grenzfehler den vierfachen mittleren Fehler, so würden 30,70 mg Stickstoffgewinn oder -verlust pro 1 kg Boden den innerhalb der Fehlergrenzen liegenden Höchstwert darstellen, sofern als Stickstoffträger lediglich Boden in Betracht kommt. Wo daneben andere stickstoffhaltige Materialien ein- oder ausgeführt sind, vergrößert der bei ihrer Untersuchung unterlaufende Bestimmungsfehler den Gesamtfehler natürlich noch um einen gewissen Betrag, dessen Höhe im Bedarfsfalle in den Tab. XII—XVIII angegeben ist.

Tabelle XIX 1.

Versuchsreihe	Stickstoffsammlung in mg — durch Bodenanalyse direkt nachgewiesen — auf 1 kg Trockenboden	auf 1 g zugesetzter Kraftquelle	auf 1 g Mannit in Beijerinckscher Mannitlösung	Kurze Beschreibung des Vegetationsbildes auf mit Boden geimpfter Kalkplatte	Bemerkungen
	Versuch 6, Tabelle XVII.				
LV	— 1087 ± 276	0	+ 2,1	Ohne sichtbare Bakterienentwickelung	Vermutlich ist die Stickstoffbilanz durch Stickstoffverluste des Moors während des Versuchs verschleiert
LVI	— 1627 ± 162	0	+ 2,1	Desgl.	
LVII	+ 74,5 ± 7,3	+ 3,8	+ 6,9	Mäßig starker, schwarzbrauner Azotobacter-Rasen	—
LVIII	+ 92,5 ± 6,2	+ 4,7	+ 7,4	Mäßig starker, graubrauner Azotobacter-Rasen	—
LIX	+ 126,0 ± 11,7	+ 6,3	+ 6,5	Desgl.	—
LX	— 26,5 ± 12,1	.	+ 8,6	Ohne sichtbare Bakterienentwickelung. Graue Farbe ist auf den im Impfmittel suspendierten Boden zurückzuführen	—
LXI	+ 106,0 ± 8,7	+ 5,3	+ 10,0	Fast zusammenhängender, schwarzbrauner Azotobacter-Rasen	—
LXII	— 1655 ± 240	.	+ 10,6	Inselförmige Einzelkolonieen dicht gedrängt, vielfach fast zusammenfließend	Auch hier ist die Stickstoffbilanz durch Stickstoffverluste des Moors während der Versuchsdauer anscheinend stark verschleiert
LXIII	— 1800 ± 211	.	+ 6,9	Desgl.	
LXIV	+ 69,5 ± 7,8	+ 3,5	+ 8,6	Starker, schwarzbrauner Azotobacter-Rasen	—
LXV	+ 87,5 ± 4,5	+ 4,4	+ 5,2	Mäßig starker, graubrauner Azotobacter-Rasen	—
LXVI	+ 208,0 ± 11,7	+ 10,4	+ 4,6	Starker, tief schwarzbrauner Azotobacter-Rasen	—
LXVII	+ 140,0 ± 12,5	+ 7,0	+ 7,7	Starker, schwarzbrauner Azotobacter-Rasen	—
LXVIII	+ 138,0 ± 5,7	+ 7,0	+ 6,2	Desgl.	—

2. Die Beziehungen zwischen der analytisch nachweisbaren Stickstoffsammlung der Böden, ihrem Verhalten in Beijerinckscher Mannitlösung und dem Aussehen der Kalkplattenbilder.

Erst die Klarstellung der in der vorstehenden Kapitelüberschrift angedeuteten Beziehungen gewährt die Möglichkeit, die Tragweite der in

1) Vergl. hierzu die Tafeln VIII—X.

den Abschnitten B I und II der Arbeit mitgeteilten Untersuchungsbefunde zu beurteilen. Zunächst mag daher das einschlägige Zahlenmaterial der im Abschnitt B III beschriebenen Versuche 1—7 in einer der Fragestellung angepaßten Anordnung in Tabelle XIX. p. 601—603 u. 604 folgen.

Eine üppige Azotobacter-Vegetation in Beijerinckscher Mannitlösung oder auf mit Bodenausschüttelung übergossenen Kalkplatten kann natürlich nur beweisen, daß Azotobacter-Bakterien in reichlicher, lebenskräftiger und zur Stickstoffsammlung befähigter Form in dem benutzten Boden vorkommen. Ob sie dort von ihrer Fähigkeit, Stickstoff zu sammeln, Gebrauch machen, hängt von den Lebensbedingungen ab. Das vorübergehende Fehlen von Wärme, Luft, Kraftquelle kann z. B. die Stickstoffsammlung sehr wohl verhindern, ohne die Lebensenergie der stickstofffixierenden Kleinlebewesen in Mitleidenschaft ziehen zu müssen. Ein allgemeiner Parallelismus zwischen den Leistungen der Stickstoffsammler im Boden und in Beijerinckscher Mannitlösung, sowie ihrer Vegetationsenergie auf der Kalkplatte ist also von vornherein ausgeschlossen, weil die zwei letzterwähnten Hilfsmittel keinen Aufschluß darüber geben können, ob im Boden neben Bakterien auch die übrigen Vorbedingungen für eine ausgiebige Stickstoffsammlung vorhanden sind. Nur bei jenen Versuchsreihen, in welchen die für die Betätigung der Stickstoffsammler unerläßlichen Bedingungen durch ausreichende Versorgung des Bodens mit Wasser, Luft, Wärme und Kraftquelle sichergestellt waren, können Beziehungen zwischen Stickstoffgewinn des Bodens sowie dem Verhalten der mit ihm geimpften Mannitlösungen und Kalkplatten erwartet werden. Die Reihen, bei welchen diese Vorbedingungen erfüllt waren, folgen in Tabelle XX.

Gewisse Beziehungen zwischen dem analytisch festgestellten Stickstoffgewinn des Bodens und der Azotobacter-Entwickelung auf den Kalkplatten sind hier unverkennbar. Sehr hohe Stickstoffgewinne finden sich nur in Gruppe I, deren mit Boden geimpfte Kalkplatten durch besonders starke, schwarzbraune Azotobacter-Rasen gekennzeichnet waren. Im Gegensatz dazu liegt der Stickstoffgewinn bei den in Gruppe IV vereinigten Versuchsreihen, deren Böden überhaupt keine Bakterienvegetation auf der Kalkplatte hervorzurufen vermochten, stets innerhalb der ca. 1,5 mg Stickstoff für 1 g Kraftquelle betragenden Fehlergrenze. Die Gruppe II bildet ebenso unverkennbar den Uebergang zu I, wie Gruppe III sich im Verhalten der Gruppe IV annähert. Einen strengen Parallelismus in jedem Einzelfalle vermißt man jedoch auch bei den in Tabelle XX aufgenommenen Versuchsreihen. Begreiflicherweise, da neben der Zahl und der physiologischen Lebensverfassung eine Reihe von später zu erörternden Umständen die Ausgiebigkeit der Stickstoffsammlung beeinflußt, ohne daß diese Nebenumstände in den verglichenen Reihen durchaus gleichartig gewesen wären.

Weniger sicher als diagnostisches Hilfsmittel erweisen sich die in der angegebenen Weise mit Bodenausschüttelung geimpften Beijerinckschen Mannitlösungen. Zwar nimmt auch bei ihnen der Stickstoffgewinn mit abnehmender Stickstoffsammlung im Boden nach Ausweis der Tabelle XX gruppenweise ab. Aber die Gruppen I und II einerseits, III und IV andererseits, zeigen in bezug auf Stickstoffgewinn ein fast vollständig gleichartiges Verhalten. Außerdem weist die Gruppe IV in Versuchsreihe LX eine auffällige Ausnahme auf. Denn hier erhebt sich der Stickstoffgewinn in Beijerinckscher Mannitlösung auf die nur ausnahmsweise erreichte Zahl von 8,6 mg pro 1 g Mannit, während ein Stickstoffgewinn im Boden überhaupt nicht

Tabelle XX.

Versuch No.	Versuch Reihe No.	Analytisch nachweisbarer Stickstoffgewinn pro 1 g Kraftquelle im Boden mg	Stickstoffsammlung pro 1 g Mannit in Beijerinckscher Lösung mg
Gruppe I. Dichter, geschlossener, schwarzbrauner Azotobacter-Rasen auf der Kalkplatte.			
1	II 3	+ 7,0	+ 6,4
	II 4	+ 5,0	+ 6,3
	IV 7	+ 6,8	+ 7,9
	VI 11	+ 3,3	+ 7,2
2	XXI	+ 11,2	+ 6,8
	XXIV	+ 10,8	+ 7,5
3	XXX	+ 5,6	+ 6,9
	XXXI	+ 9,5	+ 7,4
	XXXVII	+ 4,0	+ 6,2
	XLVI	+ 10,8	+ 8,2
6	LXII	+ 5,3	+ 10,0
	LXIV	+ 3,5	+ 8,6
	LXVI	+ 10,4	+ 4,6
	LXVII	+ 7,0	+ 7,7
	LXVIII	+ 7,0	+ 6,2
Gruppe II. Geschlossener, mäßig starker und dünner Bakterienrasen auf der Kalkplatte.			
1	I 2	+ 5,3	+ 5,3
	IV 8	+ 5,3	+ 6,7
	VI 12	+ 1,0	+ 8,9
	XI 22	+ 3,0	+ 8,3
	XIII 26	+ 2,5	+ 7,8
2	XXIII	+ 7,8	+ 6,8
6	LVII	+ 3,8	+ 6,9
	LVIII	+ 4,7	+ 7,4
	LIX	+ 6,3	+ 6,5
	LXV	+ 4,5	+ 4,4
Gruppe III. Inselförmige Einzelkolonieen auf der Kalkplatte.			
1	VII 14	+ 0,9	+ 5,1
	IX 18	+ 1,7	+ 1,5
2	XVII	+ 5,6	+ 2,3
	XXV	+ 4,3	+ 1,8
Gruppe IV. Kalkplatten ohne sichtbare Bakterienentwickelung.			
1	III 5	+ 0,2	+ 2,2
	VIII 16	+ 1,3	+ 1,5
	IX 17	+ 1,0	+ 2,1
2	XIX	+ 0,4	+ 1,7
	XXVI	+ 1,6	+ 1,4
	LX	± 0	+ 8,6

zu verzeichnen ist. Es ist naheliegend, für derartige Sprünge zunächst unbeabsichtigte Uebertragungen kleiner Bodenteilchen verantwortlich zu machen. Doch spricht manches gegen weitgehende Störungen durch planwidrige Infektionen. Allerdings erfordert ihre Vermeidung bei der Untersuchung einer größeren Zahl von Bodenproben etwas Routine. Fast sämtliche Impfungen sind aber im vorliegenden Falle unter persönlicher Mitwirkung des Berichterstatters durchgeführt, der nach fast zehnjähriger ausgiebiger Beschäftigung mit diesen Dingen wohl ein erhebliches Maß von Uebung für sich in Anspruch nehmen darf. Dann aber haben unsere zwecks Ausbildung der bodenbakteriologischen Untersuchungsmethodik durchgeführten Vorarbeiten gezeigt, daß geringe Mengen Azotobacter-führender Böden (weniger als 0,1 g) innerhalb der gewählten 14-tägigen Beobachtungsfrist meist überhaupt keine Azotobacter-Entwickelung in Beijerinckscher Mannitlösung hervorzurufen vermochten. Bei unbeabsichtigter Uebertragung könnte es sich aber stets nur um ganz geringe Bodenmengen handeln. Eine der wesentlichsten Ursachen für die geringe diagnostische Verläßlichkeit der Beijerinckschen Mannitlösung ist vielleicht in ihrem geringen und wechselnden Kalkgehalt zu suchen. Schon bei dem zur Herstellung benutzten Leitungswasser wechselt der Gehalt an $CaCO_3$ immerhin beträchtlich. Deshalb zeigt auch die Beijerincksche Mannitlösung an sich bereits Schwankungen im Gehalt an diesem für die Azotobacter-Entwickelung so wichtigen Bestandteil. Vergrößert werden die Verschiedenheiten durch den Impfboden, der je nach seiner Beschaffenheit eine verschiedene Menge $CaCO_3$ in die Nährlösung bringt oder durch seine Humussäure einen wechselnden Anteil bindet. Diese zwei Umstände bedingen im Kalkgehalte der mit Boden geimpften Beijerinckschen Mannitlösung Unterschiede, welche für die Azotobacter-Entwickelung bestimmend werden können. Wie sehr diese durch den Kalkgehalt der Lösungen beeinflußt wird, zeigt ein Fall, in welchem trotz Impfung mit notorisch Azotobacter-reichen Böden jede Entwickelung in Beijerinckscher Mannitlösung ausblieb. Bei der Prüfung roch dieselbe ausgesprochen nach Buttersäure, reagierte sauer und zeigte unter dem Mikroskop zahlreiche Clostridien und Plektridien, dagegen keine Azotobacter-Bakterien. Die nähere Prüfung ergab, daß der mit der Herstellung der Beijerinckschen Mannitlösung betraute Assistent in jugendlichem Uebereifer das beim Sterilisieren der Mannitlösung niedergeschlagene Calciumkarbonat abfiltriert hatte. Das genügte, um jede Azotobacter-Entwickelung auszuschließen. Die Verwendung nicht filtrierter Beijerinckscher Lösung ergab sofort wieder das gewohnte Bild. Trotz ihrer Empfindlichkeit ist aber die Beijerincksche Mannitlösung bei vorsichtiger Handhabung brauchbar, um größere Unterschiede im Azotobacter-Reichtum der Böden anzuzeigen. Sie erfüllt diesen Zweck im allgemeinen auch ohne analytische Kontrolle, da Azotobacter-reiche Böden ein sehr charakteristisches Vegetationsbild geben. Für den Nachweis kleinerer Unterschiede im Stickstoffsammlungsvermögen der Böden ist aber Beijerincksche Mannitlösung ungeeignet und zweckmäßig durch die Kalkplattenprobe zu ersetzen.

Die Brauchbarkeit der letzteren wird auch durch jene Versuchsreihen bewiesen, bei welcher der Boden zunächst der Kalkplattenprobe unterworfen und dann unter Ausschluß von Impfung und Infektion durch andere Böden nach Zusatz einer Kraftquelle in der üblichen Weise auf analytisch nachweisbaren Stickstoffgewinn geprüft wurde. Das ist zunächst bei den Parzellen 1, 2, 3, 4 und 7 des Dauerdüngungsversuches

N III geschehen. Die Vegetationsbilder der mit Boden dieser Parzellen geimpften Kalkplatten zeigen in 3 aufeinanderfolgenden Jahren die Tafeln I—VI.

Die mit Boden von N III 1 geimpften Platten waren in allen Fällen bakterienfrei. Eine erhebliche Stickstoffsammlung darf man also ohne vorherige Impfung nicht erwarten. Der Befund rechtfertigt diese Erwartung, denn nach Ausweis der Tabelle XV ergab der mit 2 Proz. Mannit und Dextrose versetzte Boden pro 1 kg Trockenboden folgende Stickstoffgewinne:

Reihe	Nach 34 Tagen	Nach 69 Tagen
XXXIV 66	72,8 ± 8,3 mg	+ 62,0 ± 10,0 mg
XXXIV 67	62,5 ± 8,3 „	

In keinem der obigen Fälle ist die Stickstoffsammlung erheblich. Auch die Azotobacter-Entwickelung auf der Kalkplatte war nach 34-tägiger Versuchsdauer nicht erheblich, doch zeigten sich immerhin einige Kolonieen, was auf eine ungewollte Infektion des Schaleninhalts hinweist.

Die Kalkplatte von N III 2 zeigt auf den Tafeln I—IV keine, auf Tafel VI eine mäßige Azotobacter-Entwickelung. Das veränderte Verhalten bei der letzten Untersuchung ist auf eine im Winter 1907/08 vorgenommene Neuaufmessung des Versuchsfeldes und eine dabei notwendig werdende Korrektion der Parzellengrenze zurückzuführen. Dabei kam ein bisher zu Parzelle N III 3 gehöriger 25 cm breiter Grenzstreifen zu N III 2. Zum Ausgleich der Bodenbeschaffenheit wurde auf ihm die Azotobacter-führende Erde auf 25 cm Tiefe ausgehoben, gleichmäßig über N III 2 verteilt und durch Erde aus der Mitte dieser Parzelle ersetzt. Ueber den Stickstoffgewinn des mit 2 Proz. Mannitdextrose versetzten Bodens dieser Parzelle geben nachfolgende Zahlen der Tabelle XIV Aufschluß:

Versuchsreihe	Einzelversuch	Stickstoffgewinn pro 1 kg Trockenboden	
		Nach 34 Tagen	Nach 69 Tagen
XXXVII	72	91,5 ± 6,3 mg	+ 86,8 ± 8,5 mg
XXXVII	73	66,0 ± 6,3 „	

Alle Zahlen zeigen eine den Grenzfehler und den Gewinn der Parzelle N III 1 deutlich überschreitende, immerhin aber noch mäßige Stickstoffsammlung. Der Befund entspricht also den auf Grund des Kalkplattenbildes gehegten Erwartungen durchaus.

N III 4 nähert sich auf den Tafeln I bis IV mehr der Parzelle N III 3, während das Kalkplattenbild auf Tafel VI eine deutliche Aehnlichkeit mit dem der Parzelle N III 2 aufweist. Für die Stickstoffsammlung des mit 2 Proz. Mannitdextrose versetzten Bodens dieser Parzelle ergibt Tabelle XV folgende Zahlen:

Versuchsreihe	Einzelversuch	Stickstoffgewinn pro 1 kg Trockenboden	
		nach 34 Tagen	nach 69 Tagen
XLIII	84	+ 181,5 ± 9,5 mg	+ 185,5 ± 11,0 mg
XLIII	85	+ 168,3 ± 9,5 „	

Die **Stickstoffsammlung** ist hier so bedeutend, daß sie durchaus den Erwartungen entspricht, welche man nach Maßgabe der Tafeln I bis IV hegen durfte.

Alle Kalkplattenbilder der Parzellen **N III 3 und N III 7** lassen von vornherein einen sehr bedeutenden Stickstoffgewinn sicher erscheinen. Tabelle XIV liefert die Bestätigung. Denn für die mit Mannit-Dextrose versetzten Böden finden wir dort folgende Stickstoffgewinne für 1 kg Trockenboden:

Boden	Reihe	Nach 34 Tagen	Nach 69 Tagen
N III 3	XL 78	168,6 ± 8,3 mg	185,5 ± 11,0 mg
N III 3	XL 79	163,5 ± 8,3 „	
N III 7	XLVI 90	223,3 ± 5,5 „	197,3 ± 7,8 „
N III 7	XLVI 91	206,8 ± 5,5 „	

Weiteres Beweismaterial für die Brauchbarkeit der Kalkplattenmethode bringt Tafel X mit den zwei unteren Bilderreihen, zu deren Entstehung folgendes bemerkt sei: Vier Böden verschiedenen Ursprungs wurden im rohen Zustande einer vergleichenden bakteriologischen Prüfung unterzogen. Unter ihnen begegnen uns in dem **Azotobacter**-reichen Versuchsfeldboden N III 3 und dem zu den Versuchen 1, 2, 5 und 6 benutzten **Azotobacter**-freien Rheintalsand zwei alte Bekannte, denen sandiger Lehm aus Karow in Mecklenburg und Uebergangsmoor aus dem hohen Venn zugesellt wurden. Auf der Kalkplatte stellte sich beim Karower Boden nur langsam eine ganz dürftige, meist aus Schimmel mit wenig **Azotobacter** bestehende Vegetation ein. Beim Moorboden war außer einigen Schimmelpilzkolonieen überhaupt kein Leben wahrzunehmen. Diese vier Böden wurden nach Zusatz von so viel $CaCO_3$, daß die Gesamtalkalität auf 0,50 Proz. CaO-Wert stieg, bei tunlichsten Infektionsschutz zu 500 g (bei Moor 100 g) unter Zugabe von 2 Proz. Mannit in Schalen gebracht und bei ständiger Feuchterhaltung 30 Tage bei 20°—25° C beobachtet. Die Ergebnisse der bei Beginn und beim Schluß der Versuche vorgenommenen Prüfung folgen:

(Siehe Tabelle XXI p. 610.)

Auch diese Ergebnisse bestätigen den diagnostischen Wert der Kalkplattenbilder für den Nachweis von Stickstoffsammlern im Boden, soweit diese unter den gewählten Versuchsbedingungen ihre Tätigkeit zu entfalten vermögen. Diese Einschränkung gilt aber nicht minder für die von A. **Koch**[2]) empfohlene und von Ph. **Schneider**[3]) zuerst mit Erfolg angewandte direkte Bestimmung des Stickstoffgewinns in einer mit Zucker versetzten und einige Zeit bei einer dem Optimum nahen Tem-

1) Journ. f. Landwirtschaft. 1907. p. 368.
2) Landwirtschaftl. Jahrbücher. 1906. Ergänzungsbd. IV. p. 53—83.

Tabelle XXI.

Versuchsreihe	Bodenart: Herkunft	Bodenart: Charakter	Stickstoff pro 1 kg Trockenboden mg: a. beim Versuchsbeginn	b. nach 30-täg. Versuchsdauer	c. Gewinn d. Bodens während des Versuchs	Stickstoffgewinn[1] pro 1 g Kraftquelle mg: in mit rohem Boden geimpfter Beijerinckscher Mannitlösung a.	b.	c.	im Mittel	in mit pasteurisiertem Boden geimpfter Dextroselösung	Alkalität (+) oder Azidität (−) in CaO-Aequivalent für Trockenboden Proz.	Aussehen der mit Boden geimpften Kalkplatten
LXXVII 152	Karow	Schwach lehmiger Sand	820 ± 3,8	837 ± 7,4	17 ± 8,3	1,6	1,6	1,6	1,6	1,0	+ 0,019	Ganz schwache Vegetation
LXXVIII 153	Versuchsfeld Beet N III 3	Kräftiger Lehm	920 ± 6,1	1 113 ± 9,3	193 ± 11,1	4,8	4,6	4,6	4,7	0,7	+ 0,358	Große, fast zusammenfließende Azotobacterkolonieen
LXXIX 154	Hohes Venn	Uebergangsmoor	18 300 ± 59,2	17 718 ± 61,1	−582 ± 85,1	0,9	0,9	0,8	0,9	0,5	+ 0,115	Verschiedene Schimmelkolonieen
LXXX 155	Rheintal	Leichter Sand	230 ± 4,0	233 ± 5,2	31 ± 6,6	1,3	1,6	1,3	1,4	0	— 0,025	Etwas Schimmel

Daraus berechnen sich folgende Schlußwerte:

Versuchsreihe	Boden	Kalkplattenbild	Stickstoffgewinn pro 1 kg Trockenboden mg
LXXIX 154	Moorboden	Ohne Bakterien	Verlust
LXXX 155	Rheintalsand	Desgl.	3,1 ± 6,6
LXXVII 152	Karow	Fast bakterienfrei	17,4 ± 8,3
LXXVIII 153	Versuchsfeld No. III_2	Sehr reichliche Azotobakterentwickelung	193,4 — 11,1

peratur gehaltenen Bodenprobe. Daß die unter den gewählten Versuchsbedingungen Stickstoff sammelnden Organismen unter abgeänderten Voraussetzungen von anderen Arten abgelöst werden, ist möglich und sogar wahrscheinlich. Doch ist schon auf die besondere Bedeutung der Azotobacter-Arten, auf deren Bedürfnisse das Bodenklima bei unseren Versuchen besonders zugeschnitten war, als Stickstoffsammler hingewiesen. Jedenfalls sind beide vorgeschlagenen Methoden geeignet, einen Anhalt

1) Nach Abzug der im Impfmittel und den blinden Lösungen enthaltenen Mengen.

für die Leistungsfähigkeit der wichtigsten Stickstoffsammler des Bodens zu geben, und das sichert den Verfahren zweifellos Wert für die bakterielle Bodenuntersuchung. Die Frage ist, ob die Kalkplattenprobe oder die Zuckerprobe als diagnostisches Mittel den Vorzug verdient? Selbstverständlich soll die Brauchbarkeit der letzteren nicht bestritten werden. Sie führt, wie wir gesehen haben, in der Regel sogar zu denselben Resultaten, wie die Kalkplattenprobe. Die Zuckerprobe ermöglicht es, den Verlauf der Stickstoffsammlung im Boden selbst zu verfolgen, während die Lebensbedingungen der Mikroorganismen auf der Kalkplatte wesentlich andere sind als im Boden. Aber auch mit 2 Proz. Zucker versetzte und in dünner, lockerer Schicht ausgebreitete Bodenproben verhalten sich grundverschieden von den natürlich gelagerten Böden. Ja die letzteren selbst wechseln in ihrer Beschaffenheit und Lagerungsbedingungen wieder so außerordentlich, daß es unmöglich ist, die normalen Voraussetzungen der feldmäßigen Bodenkultur bei Laboratoriumsversuchen getreu nachzuahmen. Bei ihnen handelt es sich vielmehr nur darum, nachzuweisen, daß von den vielen für die Ausgiebigkeit der Stickstoffsammlung maßgebenden Voraussetzungen eine, nämlich ein nach Zahl und Können ausreichender Bakterienbestand, im Boden gegeben ist. Ob die Bedingungen für eine rege Betätigung dieser Organismen einem natürlich gelagerten Boden gegeben sind, kann weder durch die Kalkplattenprobe, noch durch die Zuckerprobe, sondern nur auf Grund genauer Kenntnis der Lebensansprüche der Stickstoffsammler entschieden werden. A priori ist aber einzusehen und die angeführten Untersuchungen beweisen es, daß die Kalkplattenbilder für Erreichung des oben umschriebenen Zieles ein ausgezeichnetes Hilfsmittel bilden, sobald man den Azotobacter-Arten die führende Rolle als Stickstoffsammler einräumt, wie Berichterstatter es zu tun geneigt ist. Die in der Bodenausschüttelung schwebenden Azotobacter-Organismen werden auf der Kalkplatte fixiert und bilden unter ihnen zusagenden Wachstumsverhältnissen um so schneller eine leicht sichtbare Kolonie, je lebenskräftiger sie sind. Bei Verwendung von Platten gleicher Größe [1]) und gleicher Impfbodenmengen läßt also die Zahl der zur Entwickelung kommenden Kolonieen ohne weiteres Rückschlüsse auf die Häufigkeit der sie bildenden Organismen zu. Die Zeit der Entwickelung kennzeichnet die Wachstumsintensität und die Lebenskraft der Azotobacter-Bakterien eines Bodens. Die auf der Kalkplatte entstehenden Vegetaitonsbilder sind dabei so ungemein charakteristisch und haltbar, daß sie zugleich wertvolle Anschauungsmittel darstellen. Dazu ist die Ausführung der Untersuchung nach Erlangung einer gewissen Routine sehr einfach, erheischt nur ganz einfache Laboratoriumshilfsmittel und erfordert keinerlei analytische Untersuchungsarbeit. Auch von den mancherlei schwer kontrollierbaren Stickstoffgewinn- und -verlustquellen ist man ganz unabhängig. Das alles sind Vorteile, die der Kalkplatte zu diagnostischen Zwecken, als Hilfsmittel für das Studium der bakteriellen Wirkung der Bodenkultur- und -behandlungsmaßnahmen, sodann als Anschauungsobjekt einen der Zuckerprobe überlegenen Wert verleihen.

1) Die vom Berichterstatter benutzten Platten hatten 14—15 cm Durchmesser.

3. Reaktion, Kalkgehalt und Stickstoffsammlung des Bodens.

Ueber den Einfluß der Reaktion bei annähernd neutralen Böden mögen die nachfolgenden Zahlen Aufschluß geben.

Tabelle XXII.

Versuchsreihe No.	Bodenart	Alkalität (+) oder Azidität (—) in CaO-Aequivalent für Trockenboden %		Kraftquelle in % des Trockenbodens	Stickstoffgewinn für 1 kg Trockenboden mg	Bemerkungen
		Beim Versuchsbeginn	Bei Versuchsabschluß			
		Versuch 1. Tabelle XII.				
I 1	Rheintalsand	—0,029	± 0	1,9% Mannit	13,1 ± 3,9	Bei gleichem Ausgangsmaterial ist die Alkalitätszunahme bei I 1 u. I 2 spontan, bei I 3 durch $CaCO_3$-Zusatz erfolgt
I 2	„	—0,029	Spur +	„	99,8 ± 4,0	
II 3	„	neutral	Spur +	„	132,4 ± 3,9	
II 4	„	neutral	Spur +	„	95,1 ± 4,0	
		Versuch 2. Tabelle XIII.				
XIX 36	Rheintalsand	—0,100	—0,043	2% Mannit	7,9 ± 6,3	Bei den Reihen 36 u. 37 künstliche Vermehrung des Säuregehalts durch Zitronensäurezusatz. In den Reihen 32 u. 33 ist derselbe Boden roh, in den Reihen 40 u. 41 nach Zusatz v. $CaCO_3$ benutzt
XIX 37	„	—0,100	—0,029	„	7,9 ± 6,3	
XVII 32	„	—0,043	+0,014	„	122,0 ± 6,3	
XVII 33	„	—0,043	—0,009	„	103,2 ± 6,3	
XXI 40	„	+0,250	+0,230	„	243,0 ± 6,3	
XXI 41	„	+0,250	+0,230	„	205,2 ± 6,3	
		Versuch 5. Tabelle XVI.				
XLVII 92	Rheintalsand	—0,100	± 0	2% Mannit	101,5 ± 5,5	Reihen 92 u. 93 sind durch Zitronensäure sauer gemacht, 94 u. 95 sind mit $CaCO_3$ neutralisiert
XLVII 93	„	—0,100		„		
XLVIII 94	„	± 0	+0,039	„	231,5 ± 5,5	
XLVIII 95	„			„		
		Versuch 6. Tabelle XVII.				
LVIII 114	Rheintalsand	—0,013	± 0	2% Mannit	264 ± 5,5	Reihen 114 u. 115 roher Boden, 128 und 129 derselbe Boden nach Zusatz von $CaCo_3$
LVIII 115	„		± 0	„	271 ± 5,5	
LXV 128	„	+0,500	+0,535	„	275 ± 0	
LXV 129	„		+0,509	„	248 ± 5,5	
LX 118	Tonboden	—0,014	—0,038	„	— 30 ± 10,4	Reihen 118 u. 119 roher Boden, 132 u. 133 derselbe Boden nach Zusatz von $CaCO_3$
LX 119	„		—0,014	„	— 23 ± 13,8	
LXVII 132	„	+0,500	+0,454	„	147 ± 14,8	
LXVII 133	„		+0,477	„	133 ± 10,2	

Alle Reihen mit saurer Endreaktion zeigen eine geringe Stickstoffsammlung, während unter den gleichen Bedingungen bei neutraler oder schwach alkalischer Reaktion ein erheblicher Stickstoffgewinn erzielt ist. Die einzige Ausnahme bildet Versuchsreihe XVII 33, in der bei einem 0,009 Proz. CaO äquivalenten Säuregehalt eine auch den Grenzfehler überschreitende Stickstoffsammlung nachgewiesen ist. Der gefundene Säuregehalt entspricht aber einem Verbrauch von weniger als 0,1 ccm

Tabelle XXIII.

Versuchsreihe No.	Bodenart und Kraftquelle	Alkalität (+) oder Azidität (—) in CaO-Aequivalent des Trockenbodens Proz. — Beim Versuchsbeginn	Alkalität (+) oder Azidität (—) in CaO-Aequivalent des Trockenbodens Proz. — Beim Versuchsabschluß	Stickstoffgewinn pro 1 kg Trockenboden mg	Bemerkungen
			Versuch 1. Tabelle XII.		
II 3	Rheintalsand mit 1,9 Proz. Mannit	± 0	Spur +	132,[illegible] ± 3.9	Das zur Erhöhung der Basizität bei 11 u. 12 benutzte $CaCO_3$ wurde dem Boden bei Beginn des Versuchs zugesetzt
II 4		± 0	Spur +	95,1 ± 4,0	
VI 11	Desgl.	+ 0,5	+ 0,24	62,0 ± 3,9	
VI 12		+ 0,5	+ 0,30	19,1 ± 4,0	
			Versuch 2. Tabelle XIII.		
XVII 32	Rheintalsand mit 2 Proz. Mannit	— 0,043	+ 0,043	130,9 ± 5,5	Desgleichen der bei 40 u. 41 gegebene kohlensaure Kalk
XVII 33		— 0,043	+ 0,029	106,9 ± 5,5	
XXI 40	Desgl.	+ 0,25	+ 0,230	225,2 ± 5,5	
XXI 41		+ 0,25	+ 0,230	207,4 ± 5,5	
			Versuch 3. Tabelle XIV.		
XXX 58	Versuchsfeldboden mit 1 Proz. Mannit + 1 Proz. Dextrose	?	+ 0,186	114,8 ± 6,3	Desgleichen der bei diesem Versuch bei 60 u. 61 gegebene kohlensaure Kalk
XXX 59		?	+ 0,156	117,0 ± 6,3	
XXXI 60	Desgl.	?	+ 0,382	201,3 ± 6,3	
XXXI 61		?	+ 0,359	176,6 ± 6,3	
			Versuch 4. Tabelle XV.		
XXXIV 66	Versuchsfeldboden mit 1 Proz. Mannit + 1 Proz. Dextrose	?	+ 0,077	72,9 ± 8,3	Die verschiedene Basizität in den Reihen XXXIV, XXXVII, XL und XLVI ist auf die verschiedenartige Düngung d. zur Probeentnahme benutzten Feldteile in den Jahren 1895—1907 zurückzuführen
XXXIV 67		?	+ 0,077	62,5 ± 8,3	
XXXVII 72	Desgl.	?	+ 0,098	91,5 ± 6,3	
XXXVII 73		?	+ 0,124	66,0 ± 6,3	
XL 78	Desgl.	?	+ 0,740	168,6 ± 8,3	
XL 79		?	+ 0,731	163,5 ± 8,3	
XLVI 90	Desgl.	?	+ 0,852	223,3 ± 5,5	
XLVI 91		?	+ 0,853	206,8 ± 5,5	
			Versuch 5. Tabelle XVI.		
XLVIII 94	Rheintalsand und $CaCO_3$ mit 3 Proz. Mannit	± 0	0,039	230,0 ± 5,5	Die Vermischung des Bodens mit $CaCO_3$ ist beim Versuchsbeginn erfolgt
XLVIII 95				233,0 ± 5,5	
IL 96	Desgl.	+ 0,28	?	265,0 ± 5,5	
IL 97				259,0 ± 5,5	
L 98	Desgl.	+ 0,56	?	260,0 ± 5,5	
L 99				260,0 ± 5,5	
LI 100	Desgl.	+ 2,80	?	273,0 ± 5,5	
LI 101				268,0 ± 5,5	
LII 102	Desgl.	+14,0	?	345,0 ± 5,5	
LII 103				340,0 ± 5,5	
LIII 104	Desgl.	+28,0	?	341,0 ± 5,5	
LIII 105				329,0 ± 5,5	

Versuchsreihe No.	Bodenart und Kraftquelle	Alkalität (+) oder Azidität (—) in CaO-Wert des Trockenbodens Proz. Beim Versuchsbeginn	Beim Versuchsabschluß	Stickstoffgewinn pro 1 kg Trockenboden mg	Bemerkungen
		Versuch 6. Tabelle XVII.			
LVII 114	Quarzsand mit 2 Proz. Mannit	+ 0,013	± 0	89 ± 6,2	Die erhöhte Basizität der Reihen LXIV gegenüber LVII, LXVI „ LIX, LXVIII „ LXI beruht auf $CaCO_3$-Zusatz beim Versuchsbeginn
LVII 115			+ 0,017	96 ± 6,2	
LXIV 126		+ 0,50	+ 0,451	72 ± 5,8	
LXIV 127		+ 0,50	+ 0,429	67 ± 9,7	
LIX 116	Kaolin mit 2 Proz. Mannit	± 0	+ 0,014	126 ± 11,7	
LIX 117			± 0	126 ± 11,7	
LXVI 130		+ 0,50	+ 0,435	216 ± 11,7	
LXVI 131			+ 0,439	200 ± 11,7	
LXI 120	Versuchsfeldlehm mit 2 Proz. Mannit	+ 0,098	+ 0,089	116 ± 8,6	
LXI 121			+ 0,087	96 ± 8,7	
LXVIII 134		+ 0,50	+ 0,572	133 ± 7,5	
LXVIII 135			+ 0,578	143 ± 3,8	
		Versuch 7. Tabelle XVIII.			
LXX 138	Versuchsfeldlehm mit 2 Proz. Mannit	+ 0,096	+ 0,027	143 ± 4,0	Bei gleichem Ausgangsboden ist die Erhöhung der Basizität überall durch $CaCO_3$ erzielt
LXX 139			+ 0,026	112 ± 4,0	
LXXIV 146		+ 1,216	+ 1,177	206 ± 4,0	
LXXIV 147			+ 1,180	218 ± 4,0	
LXXI 140	Versuchsfeldlehm mit 2 Proz. Dextrose	+ 0,096	+ 0,018	76 ± 4,0	
LXXI 141			± 0	87 ± 4,0	
LXXV 148		+ 1,216	+ 1,200	121 ± 4,0	
LXXV 149			+ 1,212	130 ± 4,0	
LXXII 142	Versuchsfeldlehm mit 1 Proz. Dextrose	+ 0,096	± 0,018	90 ± 4,0	
LXXII 143			± 0,018	88 ± 4,0	
LXXVI 150		+ 1,216	+ 1,250	246 ± 4,0	
LXXVI 151			+ 1,250	244 ± 4,0	

der verwendeten Titerlauge und kann daher wohl als Fehler angesehen werden. Es ergibt sich dann, daß unter den gewählten, auf die besonderen Bedürfnisse der aëroben Mikroorganismen zugeschnittenen Versuchsbedingungen die vollständige Bindung der freien Bodensäuren unerläßliche Voraussetzung für eine ausgiebige Stickstoffsammlung ist.

Für die Beantwortung der weiteren Frage, inwieweit ein den Neutralisationspunkt erheblich überschreitender Basenzusatz zum Boden der Stickstoffsammlung Vorschub leistet, liefern die Versuche ein ausgedehntes Material. In der nachfolgenden Zusammenstellung mögen nur diejenigen Reihen folgen, in welchen das bei der Bodenkultur gebräuchlichste Säurebindungsmittel $CaCO_3$ Verwendung gefunden hat (Tab. XXIII. p. 613 u. 614).

Unter übrigens gleichen Bedingungen ist durch einen den Neutralisationspunkt erheblich übersteigenden Kalkkarbonatzusatz fast regelmäßig ein vermehrter Stickstoffgewinn erzielt. Aber die Reihen des Versuches 1 bilden wieder Ausnahmen. Außerdem folgt nur der zur Durchführung von Versuch 6 mitbenutzte Quarzsand in

den Reihen LVII und LXIV insofern nicht ganz der Regel, als durch $CaCO_3$-Zusatz zum rohen Boden kein vermehrter Stickstoffgewinn erzielt ist. Doch tritt hier der Azotobacter-fördernde Einfluß der Kalkzugabe zum neutralen Boden wenigstens auf der Kalkplatte deutlich hervor. Besonders ausgesprochen ist die günstige Wirkung des Kalkes nach Ausweis der folgenden Ziffern in den Reihen, wo neben dem mehr exklusiven Mannit auch Dextrose als Kraftquelle gegeben ist:

Versuchsreihe	Kraftquelle	Stickstoffgewinn in mg pro 1 kg Trockenboden	
		Ueberhaupt	Mehr durch $CaCO_3$
LXX ohne $CaCO_3$	2 Proz. Mannit	127,5	—
LXXIV mit $CaCO_3$	2 Proz. Mannit	213,0	+ 85,5
LXXII ohne $CaCO_3$	1 Proz. Mannit + 1 Proz. Dextrose	89,0	—
LXXVI mit $CaCO_3$	1 Proz. Mannit + 1 Proz. Dextrose	245,0	+ 156,0

Die Erwartung, daß bei ausschließlicher Verabreichung von Dextrose als Kraftquelle sich die fördernde Wirkung des Kalkes noch mehr bemerkbar machen würde, wird in dem zur Klärung dieser Sonderfrage angestellten Versuch 7 nicht erfüllt, da in den Dextrosereihen LXXI und LXXV der Stickstoffgewinn mit 76 bezw. 130 mg für 1 kg Trockenerde überhaupt gering blieb.

An der Nützlichkeit des Kalkes zur Beförderung der Stickstoffsammlung unter den gewählten Versuchsbedingungen kann also im allgemeinen wohl nicht gezweifelt werden. Das entspricht auch durchaus den vorliegenden älteren Befunden, denn auch H. Fischer[1]), Krzemieniewski[2]), Christensen[3]) und Schneider[4]) fanden eine Azotobacter-fördernde Wirkung des Kalkes. Aber auch die hier als Ausnahme festgestellte Verminderung der Stickstoffsammlung durch Kalk wurde schon von Koch[5]) beobachtet. Daß es sich bei der als Regel zu betrachtenden Azotobacter-Förderung durch Kalk nicht um eine Nährwirkung desselben oder um eine durch ihn bewirkte Säurebindung allein handelt, dürfte besonders der Versuch 5 beweisen. Sicherlich reichte dort die z. B. in Reihe LI gegebene $CaCO_3$-Gabe von 5 Proz. des Bodens zur denkbar üppigsten Kalkversorgung der Bakterien und zur vollständigen Säurebindung aus. Und dennoch ergab die Erhöhung der Kalkgabe auf 25 Proz. $CaCO_3$ in Reihe LII eine erneute Steigerung des Stickstoffgewinns. Der Kalk begünstigt also die Stickstoffsammlung offenbar aus den verschiedensten Gründen:

1) In geringeren Gaben muß er auf saueren oder neutralen Böden durch Bindung vorhandener oder bei der Humuszersetzung entstehender Säuren zunächst ein grundsätzliches Hindernis für lebhafte Stickstoffsammlung beseitigen.

2) Seine Nährwirkung dürfte selten praktische Bedeutung erlangen,

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XIV. p. 33. Bd. XV. p. 235.
2) Extrait du Bulletin de l'Académie de Cracovie. Séance de 2. juillet 1906. p. 560—577.
3) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XVII. 1906. p. 382.
4) Landw. Jahrb. 1906. Ergänzungsbd. IV. p. 76.
5) Journ. f. Landw. 1907. p. 380.

da ein etwaiger geringer Bedarf der Bakterien an Kalk auch durch die geringsten Bodenvorräte leicht gedeckt werden wird.

3) Auch mag durch die Gegenwart reichlicher Kalkmengen die Zersetzung des Bodenhumus in dem Sinne beeinflußt werden, daß als Kraftquelle für die Stickstoffsammler geeignete Zersetzungsprodukte in verhältnismäßig reichlicher Menge entstehen.

4) In großen Gaben dürfte der Kalk dadurch fördernd auf die Stickstoffsammlungsvorgänge einwirken, daß er weniger kalkharte Nebenbuhler der Stickstoffsammler unterdrückt und dadurch den letzteren, deren wichtigste Glieder sehr kalkfest sind, das Uebergewicht im Kampf um die Kraftquelle verleiht. Es liegt auf der Hand, daß dieser Einfluß um so größer sein wird, je spärlicher und universaler geeignet die verfügbare Kraftquelle des Bodens ist. Daher wird die Kalkwirkung unter den gewöhnlichen Voraussetzungen des Feldbaues, wo als Kraftquelle geeignete Stoffe nur spärlich und in einer der großen Mehrzahl der Bodenorganismen zusagenden Form geboten werden, ausgesprochener hervortreten, als bei Darreichung verhältnismäßig großer Mengen einer Kraftquelle, die nach Art des Mannits den besonderen Bedürfnissen der wichtigsten Stickstoffsammler ausgezeichnet angepaßt, für die Masse der Bodenorganismen dagegen wenig oder gar nicht geeignet ist.

4. Die Einwirkung anderer Basen auf die Stickstoffsammlung.

Handelt es sich bei den durch Basenzusatz erzielten Wirkungen um eine spezifische Kalkwirkung oder lassen sich dieselben Wirkungen auch durch äquivalente Mengen anderer Basen erzielen? Die nachfolgenden Versuchszahlen geben Antwort auf diese Frage.

(Siehe Tabelle XXV p. 617.)

Schon die Ergebnisse des besonders stark mit Jugendmängeln behafteten Versuches 1 deuten eine Ueberlegenheit der Erdalkalikarbonate und eine Rückständigkeit des Natrons an, wenn man die Versuchsreihe 57, bei der durch Störung der kapillaren Wasseraufleitung ein nachweisbarer Fehler vorgekommen ist, ausscheidet. Viel durchsichtiger sind aber die Ergebnisse des Versuches 2, der die Gleichwertigkeit des Kalkes und der Magnesia für die Förderung der Stickstoffsammlung, zugleich eine außerordentliche Minderwertigkeit der Alkalikarbonate und besonders des Natrons in dieser Beziehung ergibt. Eine Bestätigung des ersten Teiles dieses Satzes bildet der Versuch 4, wo der Stickstoffgewinn bei dem fortgesetzt mit Magnesia gedüngten Boden (Reihe XL) ebenso groß ist, wie bei dem seit 1894 mit Kalk gedüngten Boden (Reihe XLIII), wiewohl die Basizität bei diesem bedeutend höher liegt, als bei jenem. Auch dieser Befund spricht gegen eine das Wachstum der Stickstoffsammler fördernde spezifische Nährwirkung des Kalkes, die seine Vertretungsfähigkeit durch Magnesia ausschließen würde. Daß die Alkalikarbonate nicht ohne weiteres an die Stelle der Erdalkalikarbonate zu treten vermögen, mag zum Teil in dem ungünstigen Einfluß der Alkalien auf die mechanisch-physikalische Beschaffenheit des Bodens, zum Teil auch auf plasmolytische Wirkungen und den Stickstoffsammlern nachteilige chemische Umsetzungen des Bodenhumus durch die Alkalien zurückzuführen sein.

Wie gering quantitativ die Kalkansprüche der die Stickstoffsammlung vermittelnden Bodenorganismen sind, zeigen die Versuchsreihen III 6

Tabelle XXV.

Versuchs-reihe No.	Bodenart und -behandlung	Art der zugesetzten Basis	Basizität (+) oder Azidität (—) in CaO-Aequivalent für Trockenboden Proz. a) Beim Versuchsbeginn	b) Beim Versuchsabschluß	Kraftquelle nach Art und Menge	Stickstoffgewinn pro 1 kg Trockenboden mg
			Versuch 1. Tabelle XII.			
II 3	Rheintalsand, neutralisiert mit	$CaCO_3$	± 0	Spur +	1,9 Proz. Mannit	132,4 ± 3,9
II 4						95,1 ± 4,0
III 5		$MgCO_3$	± 0	Spur +		3,4 ± 3,9 [2])
III 6				+ 0,050		133,7 ± 4,0
IV 7		K_2CO_3	± 0	Spur +		126,9 ± 3,9
IV 8						99,0 ± 4,0
V 9		Na_2CO_3	± 0	Spur +		41,5 ± 3,9
V 10						42,1 ± 4,0
			Versuch 1. Tabelle XII.			
VI 11	Rheintalsand, beim Versuchsbeginn auf + 0,50 Proz. CaO-Aequivalent gebracht durch	$CaCO_3$	+ 0,50	+ 0,244	1,9 Proz. Mannit	62,0 ± 3,9
VI 12				+ 0,301		19,1 ± 4,0
VII 13		$MgCO_3$		+ 0,237		6,2 ± 3,9
VII 14				+ 0,251		16,8 ± 4,0
VIII 15		K_2CO_3		+ 0,122		18,2 ± 3,9
VIII 16				+ 0,108		23,6 ± 4,0
IX 17		Na_2CO_3		+ 0,129		19,6 ± 3,9
IX 18				+ 0,079		32,5 ± 4,0
			Versuch 2. Tabelle XIII.			
XXI 40	Rheintalsand, auf 0,25 Proz. CaO-Aequivalent gebracht durch	$CaCO_3$	+ 0,25	+ 0,230	2 Proz. Mannit	225,2 ± 5,5
XXI 41				+ 0,230		207,4 ± 5,5
XXIV 46		$MaCO_3$		+ 0,272		221,2 ± 5,5
XXIV 47				+ 0,258		211,8 ± 5,5
XXV 48		K_2CO_3		+ 0,258		64,6 ± 5,5
XXV 49				+ 0,244		58,9 ± 5,5
XXVI 50		Na_2CO_3		+ 0,200		48,7 ± 5,5
XXVI 51				+ 0,200		30,9 ± 5,5
			Versuch 2. Tabelle XV.			
XL 78	Versuchsfeldlehm, seit 1885 gedüngt mit	Aetzkalk	+ 0,58 [1])	+ 0,740	1 Proz. Mannit + 1 Proz. Dextrose	168,6 ± 8,3
XL 79				+ 0,731		163,5 ± 8,3
XLIII 84		Aetzmagnesia	+ 0,35 [1])	+ 0,226		181,5 ± 9,5
XLIII 85				+ 0,240		168,3 ± 9,5

1) Im Frühjahr 1907 an Proben der betreffenden Beete ermittelte Werte.
2) Versuchsstörung durch Austrocknen des Bodens (siehe die Bemerkung auf p. 584).

in Versuch 1, XXIV 46 und 47 in Versuch 2, in welchen nach Neutralisierung eines ganz kalkarmen Bodens durch reine kohlensaure Magnesia sehr bedeutende Stickstoffgewinne erzielt wurden. Nicht minder zeigt der erhebliche Stickstoffgewinn in den weder mit Kalk, noch mit Magnesia behandelten Reihen I 2 in Versuch 1, XVII 32 und 33 in Versuch 2, XLVII 92 und 93 in Versuch 5, LVII 112 und 113, LVIII 114 und 115 in Versuch 6, wie falsch es ist, schlechtweg von einem großen Kalkbedürfnis der stickstoffsammelnden Bodenorganismen zu reden. Es kann daher nicht weiter überraschen, daß der Gehalt des Bodens an in 10-proz. Salmiaklösung löslichem Kalk („physiologisch wirksamem Kalk"), der in einer Anzahl von Versuchen bestimmt ist, keine von der Alkalität des Bodens unabhängigen Beziehungen zur Stickstoffsammlung erkennen läßt. Die nachfolgende Nebeneinanderstellung mag das dartun:

Tabelle XXV.

Versuchsreihe No.	Gehalt des Trockenbodens in 10-proz. Salmiaklösung löslichem Kalk Proz.	Alkalität in CaO-Aequivalent für Trockenboden Proz.	Stickstoffgewinn pro 1 kg Trockenboden mg
		Versuch 3.	
XXX	0,150	0,171	114,8 und 117,0 ± 6,3
XXXI	0,381	0,371	201,3 und 176,6 ± 6,3
		Versuch 4.	
XXXIV	0,202	0,077	72,8 und 62,5 ± 8,3
XXXVII	0,160	0,111	91,5 und 66,0 ± 6,3
XL	0,398	0,736	168,6 und 163,5 ± 8,3
XLIII	0,173	0,233	181,5 und 168,3 ± 9,5
XLVI	0,407	0,853	206,8 und 223,3 ± 5,5

Deshalb dürften auch die Bemühungen[1]), aus dem Verhalten des rohen Bodens in Beijerinckscher Mannitlösung auf seinen Gehalt an physiologisch wirksamem Kalk zu schließen, von vornherein ziemlich aussichtslos sein.

5. Kraftquelle und Stickstoffsammlung.

Unter den die Stickstoffsammlung beeinflussenden Umständen tritt in den vorhergehenden Versuchen die Wirkung der Kraftquelle am meisten hervor. Wie sich der Boden mit und ohne Kraftquellenzusatz verhält, mag zusammenfassend die nachfolgende Zahlenreihe dartun, in welcher die streng vergleichbaren Versuchsreihen mit und ohne Kraftquelle jedesmal nebeneinanderstehen.

Ohne Zuführung einer solchen sind nie große Stickstoffgewinne erzielt worden, während solche regelmäßig zu verzeichnen sind, wenn unter genau den gleichen Versuchsbedingungen Mannit, Dextrose oder auch Saccharose als Kraftquelle gegeben wurden. Eine kleine Stickstoffzunahme ist allerdings auch ohne Kraftquelle festzustellen. In den Reihen XX, XXXIII, LLV, LXIX und LXXIII überschreitet der Gewinn sogar den vierfachen mittleren Fehler. Bei dem sehr humusarmen Rheintalsand

1) Christensen a. a. O. p. 382.

Tabelle XXVI.

Versuch No.	Versuchsreihe ohne Kraftquelle: No.	Stickstoffgewinn für 1 kg Trockenboden mg: a	b	Mittel	Vergleichsreihe mit Kraftquelle: No.	Stickstoffgewinn für 1 kg Trockenboden mg: a	b	Mittel	Bodenart	Art und Menge der Kraftquelle
1	XIV	.	.	3,0 ± 4,0	I	.	.	99,8 ± 4,0	Rheintalsand	1,9 Proz. Mannit
2	XVI	13,1 ± 5,5	2,2 ± 5,5	7,7 ± 5,5	XVII	130,9 ± 5,5	106,9 ± 5,5	118,9 ± 5,5	dgl.	2 " "
2	XX	38,4 ± 5,5	13,6 ± 5,5	26,0 ± 5,5	XXI	225,2 ± 5,5	207,4 ± 5,5	216,3 ± 5,5	dgl.	2 " "
3	XXVII	19,3 ± 6,3	15,8 ± 6,3	17,6 ± 6,3	XXX	114,8 ± 6,3	117,0 ± 6,3	115,9 ± 6,3	Versuchsfeldlehm	1 Proz. Mannit + 1 Proz. Dextrose
3	XXVIII	17,5 ± 6,3	21,0 ± 6,3	19,3 ± 6,3	XXXI	201,3 ± 6,3	176,6 ± 6,3	189,0 ± 6,3	dgl.	dgl.
4	XXXIII	38,1 ± 8,3	38,5 ± 8,3	38,3 ± 8,3	XXXIV	72,8 ± 8,3	62,5 ± 8,3	67,7 ± 8,3	dgl.	dgl.
4	XXXVI	23,5 ± 6,3	18,8 ± 6,3	21,2 ± 6,3	XXXVII	91,5 ± 6,3	66,0 ± 6,3	78,8 ± 6,3	dgl.	dgl.
4	XXXIX	13,5 ± 8,3	23,3 ± 8,3	18,4 ± 8,3	XL	168,6 ± 8,3	163,5 ± 8,3	166,0 ± 8,3	dgl.	dgl.
4	XLII	32,3 ± 9,5	33,0 ± 9,5	33,2 ± 9,5	XLIII	181,5 ± 9,5	168,3 ± 9,5	174,9 ± 9,5	dgl.	dgl.
4	XLV	58,0 ± 5,5	39,3 ± 5,5	48,7 ± 5,5	XLVI	223,3 ± 5,5	206,8 ± 5,5	215,1 ± 5,5	dgl.	dgl.
7	LXIX				LXX	143 ± 4,0	112 ± 4,0	128,0 ± 4,0	dgl.	2 Proz. Mannit
7	LXIX	58 ± 4,0	60 ± 4,0	59 ± 4,0	LXXI	76 ± 4,0	87 ± 4,0	82 ± 4,0	dgl.	2 Proz. Dextrose
7	LXIX				LXXII	90 ± 4,0	88 ± 4,0	89 ± 4,0	dgl.	1 Proz. Mannit + 1 Proz. Dextrose
7					LXXIV	208 ± 4,0	218 ± 4,0	213 ± 4,0	dgl.	2 Proz. Mannit
7	LXXIII	90 ± 4,0	93 ± 4,0	91,5 ± 4,0	LXXV	121 ± 4,0	130 ± 4,0	126 ± 4,0	dgl.	2 Proz. Dextrose
7					LXXVI	246 ± 4,0	244 ± 4,0	245 ± 4,0	dgl.	2 Proz. Mannit + 1 Proz. Dextrose

schwankt die Zunahme für 1 kg Trockenboden zwischen 3,0—26,0 mg und beträgt im Mittel 12,2 ± 7 mg. Bei dem humusreicheren Versuchsfeldlehm liegt er mit mindestens 17,6, höchstens 91,5 und im Mittel 38,6 ± 8,2 mg für 1 kg Trockenerde wesentlich höher. Diese Zahlen stützen die Vermutung, daß wenigstens beim Versuchsfeldboden während der Versuchsdauer auch ohne Zusatz einer besonderen Kraftquelle eine kleinere Stickstoffsammlung stattgefunden hat. Daß es sich dabei wenigstens zum größten Teil um durch Organismen festgelegten Stickstoff handelt, zeigen die in Versuch 4 Tabelle XV eingeschalteten Sublimatreihen, die im Durchschnitt zwar ebenfalls einen kleinen, aber hinter den Vergleichsreihen ohne Sublimat erheblich zurückbleibenden Stickstoffgewinn aufweisen. Daß als natürliche Kraftquelle für die Stickstoffsammler bestimmte Humusverbindungen des Bodens in Frage kommen, dafür sprechen die nachfolgend angedeuteten Beziehungen zwischen Stickstoffgewinn und Humusgehalt des Bodens [1]:

Bodenart	Ungefährer Humusgehalt [2]	Stickstoffgewinn pro 1 kg Trockenboden mg
1) Versuchsfeldlehm	0,8—0,9 Proz.	12,2 ± 7,0
2) Rheintalsand	2,0—3,0 „	38,6 ± 8,2

Mag aber die bakterielle Stickstoffsammlung im Boden auch dank der aus dem Humus langsam verfügbar werdenden Kraftquelle nicht ganz unterbunden sein, eine belangreiche und die Fehlergrenze weit überschreitende Höhe erreicht sie doch erst nach künstlicher Zuführung geeigneter Kraftquellen zum Boden. Ueber als solche geeignete Stoffe ist von anderer Seite [3]) bereits ein so erhebliches Material zusammengetragen, daß ich von einer Ausdehnung der Versuche nach dieser Richtung Abstand genommen habe. Erwähnt sei nur, daß bei den eigenen Versuchen neben Mannit auch Saccharose und Dextrose, letztere besonders in Verbindung mit Mannit, eine bedeutende Stickstoffsammlung ergeben haben. Die Notwendigkeit des Kraftquellenzusatzes zur Erzielung analytisch nachweisbarer Stickstoffgewinne im Boden bestätigen auch von F. Löhnis [4]) Ph. Schneider [5]), A. Koch [6]) und mitgeteilte Beobachtungen. Schneider verwendete mit gutem Erfolg Mannit und Glukose. Koch nahm mit gleich gutem Erfolg seine Zuflucht zu Dextrose, Saccharose und löslicher Stärke, welch' letztere natürlich nur in ihren hydrolytischen Spaltungsprodukten zur Energiebestreitung der Stickstoffsammler Verwendung finden kann. Löhnis [7]) erzielte in Bodenextrakten mit etwas K_2HPO_4 bei Gegenwart von Mannit, Xylose, Milchzucker, Lävulose, Inulin, Galaktose, Maltose, Arabinose und Dextrose stets eine

1) Neue interessante Beobachtungen über die Rolle der Humuskörper bei der Stickstoffsammlung durch Azotobacter veröffentlicht S. Krzeminiewski in Bull. de l'Acad. de sciences. Krakau. Novbr. 1908. Da zur Zeit der Veröffentlichung die Drucklegung dieser Mitteilung bereits erfolgt war, mußte von einer Berücksichtigung leider abgesehen werden.

2) Der Humusgehalt ist nicht in allen Fällen bestimmt. Auch die viel bessere und längere Erhaltung der Lebenskraft der Azotobacter-Bakterien im Versuchsfeldlehm im Vergleich zu Rheintalsand spricht für einen günstigen Einfluß gewisser Humusverbindungen auf die wichtigsten Stickstoffsammler.

3) Koch a. a. O.

4) Löhnis und Pillai, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XX. 1908. p. 782.

5) Landw. Jahrbücher. 1906. Ergbd. IV. p. 71 u. 83.

6) Journal f. Landwirtschaft. 1907. p. 392 u. 393.

7) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XX. p. 782.

üppige Azotobacter-Entwickelung. Allzu exklusiv scheinen die Stickstoffsammler im allgemeinen und die Azotobacter-Arten im besonderen demnach in bezug auf die Art der verlangten Kraftquelle nicht zu sein. Auf die Tragweite der verfügbaren Menge für die Stickstoffbereicherung des natürlich gelagerten Bodens hat Verfasser [1]) auf Grund von Erwägungen bereits vor 6 Jahren hingewiesen. Dextrose, Saccharose, Stärke, Xylose, Arabinose bezw. ihre Muttersubstanzen gelangen ja mit Ernterückständen, Gründünger und sonstigen pflanzlichen Abfällen in gewisser Menge in den Boden. Es ist wohl sicher, daß sie in dieser Form unter den Verhältnissen des Feldbaues auch den Stickstoffsammlern zugute kommen. Aber die Menge ist für eine erhebliche Stickstoffsammlung zu gering, zumal auch Nichtstickstoffsammler für ihre Energiebestreitung einen Anteil der genannten Stoffe mit Beschlag belegen werden. Ausgiebigere bakterielle Stickstoffsammlung im natürlich gelagerten Boden wird deshalb wohl nur möglich sein, wenn die hydrolytischen Spaltungsprodukte der Cellulose, der Pentosane und ähnlicher Stoffe, die dem Boden bei der üblichen Kultur gewöhnlich in erheblicheren Mengen einverleibt werden, für die Stickstoffsammler geeignete Energiestoffe bilden. Für ihre bedingte Verwendbarkeit sprechen ja die angezogenen Beobachtungen von Löhnis. Auch Koch hält in seiner wiederholt erwähnten Veröffentlichung die Eignung des Getreidestrohs als Kraftquellenlieferant für die Stickstoffsammler für „wahrscheinlich". Bei den vorliegenden Versuchen des Berichterstatters ist diese praktisch wichtige Frage durch Einschiebung einiger Reihen, denen Stallmist und verwesende Pflanzenreste für sich oder gemeinsam mit Mannit zugesetzt waren, wenigstens flüchtig berührt worden. Das Ergebnis der betreffenden Versuchsreihen möge folgen:

(Siehe Tabelle XXVII p. 622.)

Offenbar ist während des Versuchs Stickstoff aus dem Stallmist und den Rapsblättern verloren gegangen. Auch mögen Stallmist und Raps Verluste an Bodenstickstoff veranlaßt haben. Ein Teil dieser Verluste mag dann durch Stickstoffsammlung wieder kompensiert sein. Deren Ausgiebigkeit würde aber natürlich nur bestimmbar sein, wenn die Verlustgrößen bekannt wären, was nicht der Fall ist. Der Befund spricht aber trotz der methodischen Unzulänglichkeit der Versuche nicht für eine besondere Eignung der in den ersten Zersetzungsstadien befindlichen Rinderkot- und Rapsblattsubstanz als Kraftquellenlieferant für die Stickstoffsammler. Gleichsinnig ist das Ergebnis der beim wiederholt erwähnten Dauerdüngungsversuch des Versuchsfeldes gemachten Beobachtungen. Die einzige Stallmistparzelle erwies sich bei den mit ihr durchgeführten Laboratoriumsversuchen regelmäßig Azotobacter-frei und nahm auch nach Mannitzusatz in bezug auf analytisch nachweisbaren Stickstoffgewinn stets eine ungünstige Stellung ein, was in den Tabellen XIV und XV im einzelnen nachgewiesen ist. Daß es sich nicht um spezifisch ungünstige Wirkungen des im ersten Zersetzungstadium befindlichen Düngers auf das Bodenklima handelt, zeigt die auf p. 585 beschriebene Versuchsfortführung mit den Reihen XVIII und XXII des Versuchs 2. Hier setzte die Stickstoffsammlung in den mit Stallmist behandelten Böden sofort

---

1) Siehe „Illustr. Landw. Zeitung". 1903. No. 94, wo die Stickstoffsammlung pro Jahr und Hektar nach Maßgabe der verfügbaren Energiemenge des Bodens zu höchstens 48 kg berechnet ist. Ferner „Verhandl. d. Gesellschaft Deutscher Naturforscher und Aerzte" in Karlsbad. 1902 I. Teil. p. 220 u. 221.

Tabelle XXVII.

Versuchs-reihe No.	Einzelversuch No.	Boden	Behandlung	Alkalität (+) in CaO-Aequivalent für Trockenboden beim Versuchsschluß Proz.	Stickstoffgewinn pro 1 kg Trockenboden mg	
			Versuch 1, Tabelle XII.			
I	1	Rheintalsand	Roher Boden mit 1,9 Proz. Mannit	± 0	+ 13,1 ± 3,9	
	2	„		Spur +	+ 99,8 ± 4,0	
X	19	„	Roher Boden mit 1,9 Proz. Mannit + 2,5 Proz. Rinderkot pro 1 kg	Spur +	— 13,7 ± 4,1	
	20	„		+ 0,036	+ 77,4 ± 4,2	
VI	11	„	Boden mit 0,5 Proz. CaO als $CaCO_3$ + 1,9 Proz. Mannit	+ 0,244	+ 62,9 ± 3,9	
	12	„		+ 0,301	+ 19,1 ± 4,0	
XII	23	„	Boden mit 0,5 Proz. CaO als $CaCO_3$ + 1,9 Proz. Mannit + 2,5 Proz. Rinderkot	+ 0,287	+ 82,5 ± 4,1	
	24	„		+ 0,286	+ 115,2 ± 4,0	
XV	28	„	Boden mit $CaCO_3$ und K_2HPO_4 und 2,5 Proz. Rinderkot	+ 0,287	— 22,5 ± 4,1	
	29	„		+ 0,279	— 59,0 ± 4,2	
			Versuch 2, Tabelle XII.		Nach 25 Tagen	Nach 50 Tagen
XVI	30	Rheintalsand	Roher Boden ohne Kraftquelle	± 0	+ 8,3 ± 6,3	± 13,1 ± 5,5
	31	„		— 0,043	+ 8,1 ± 6,3	+ 2,2 ± 5,5
XVIII	34	„	Roher Boden + 2 Proz. Stallmisttrockensubstanz	+ 0,043	— 20,4 ± 6,4	— 51,0 ± 5,5
	35	„		+ 0,029	— 20,4 ± 6,4	— 25,8 ± 5,5
XXI	11	„	Boden + 0,25 Proz CaO als $CaCO_3$ + 2 Proz. Mannit	+ 0,230	+ 243,0 ± 6,3	+ 225,2 ± 5,5
	12	„		+ 0,230	+ 205,2 ± 6,3	+ 207,4 ± 5,5
XXII	13	„	Boden + 0,25 Proz. CaO als $CaCO_3$ + 2 Proz. Stallmisttrockensubstanz	+ 0,244	— 14,5 ± 6,4	— 20,3 ± 5,5
	14	„		+ 0,216	— 38,7 ± 6,4	— 38,6 + 5,5
			Versuch 5, Tabelle XVI.		Nach 27 Tagen	Nach 65 Tagen
XLIX	96	Gemisch von 99,50 Proz. Rheintalsand und 0,50 Proz. $CaCO_3$	Bis zur 1. Untersuchung 2 Proz. Mannit, zwischen 1. und 2. Untersuchung 1 Proz. Mannit	—	+ 118 ± 5,4	+ 265 ± 5,5
	97				+ 134 ± 5,4	+ 259 ± 5,5
LIV	106	„	2 Proz. Rapsblättertrockensubstanz	—	— 608 ± 5,4	— 743 ± 5,5
	107	„			— 614 ± 5,4	— 750 ± 5,5

mit voller Kraft ein, sobald dem Boden Mannit als Kraftquelle zugegeben war, während ohne diese Zulage ein Stickstoffgewinn auch bei längerer Fortführung des Versuches nicht zu verzeichnen war.

Koch scheint auf die Assimilationsprodukte der Bodenalgen als Kraftquelle der Stickstoffsammler besondere Hoffnungen zu setzen. Wenigstens betont er deren Bedeutung in allen seinen Veröffentlichungen stets besonders. Er selbst hatte aber mit den Algen wenig Glück. „Orientierende Versuche mit Stichococcus und Chlorococcus ergaben kein vertrauenerweckendes Resultat, offenbar weil, wie auch die Versuche anderer zeigen, durchaus nicht alle Algen für den erwähnten Zweck gleich günstig sind[1].“ Bei einigen Versuchen, welche Berichterstatter selbst mit Rohkulturen von Gloeocapsa durchführte, versagten diese trotz üppigster Entwickelung als Vorarbeiter für Azotobacter chroococcum vollständig, weshalb von einer Beschreibung der Versuche ganz abgesehen sei. Die Rolle der Algen dürfte also trotz der Versuche von Kossowitsch, Déherain und Demoussy, Bouilhac und Giustinioni der Klärung durch weitere Versuche noch dringend bedürftig sein, ehe ihre Tragweite für die Stickstoffsammlung vollständig zu übersehen ist.

6. Der Stickstoffgehalt des Bodens in seinem Einfluß auf die Stickstoffsammlung.

Inwieweit der Gehalt des Bodens an Stickstoffverbindungen an sich von bestimmender Bedeutung für die Größe des Stickstoffgewinns ist, zeigen die nachfolgend aufgeführten Versuchsreihen:

(Siehe Tabelle XXVIII p. 624.)

Von einer umgekehrten Proportionalität zwischen Stickstoffgehalt des Bodens und Größe der Stickstoffsammlung kann allgemein gar nicht die Rede sein. Solange sich der Stickstoffgehalt in den bei unseren gewöhnlichen Ackerböden üblichen Grenzen hält, scheint zu hoher Gehalt an Bodenstickstoff eine ausgiebige Stickstoffsammlung nicht zu behindern. Anders verhalten sich die sehr stickstoffreichen Moorböden, bei welchen eine Stickstoffsammlung in keinem Falle stattgefunden hat. Eine offene Frage bleibt es dabei natürlich, ob der Stickstoffreichtum oder irgend eine andere den Moorböden eigentümliche Eigenschaft die Stickstoffsammlung verhindert hat, oder ob gar eine solche stattgefunden hat, aber lediglich wegen gleichzeitiger Stickstoffverluste des Moors nicht in die Erscheinung tritt. Daß das den gekalkten Moorböden eigentümliche Klima den Azotobacter-Bakterien nicht spezifisch feindlich ist, zeigen die auf Tafel VIII wiedergegebenen Kalkplattenbilder der Versuchsreihen LXII und LXIII. Die lebhafte Azotobacter-Vegetation dieser Kalkplatten läßt erkennen, daß die beim Versuchsbeginn mit dem Impfboden zugeführten Bakterien sich bis zum Versuchsabschluß durchaus lebenskräftig erhalten haben.

7. Die Abhängigkeit der Stickstoffsammlung von der mechanischen Zusammensetzung des Bodens.

Für den Einfluß, welchen die mechanischen Gemengteile des Bodens auf die Stickstoffsammlung ausüben, geben die Versuche 5 und 6 einige

---

1) Journ. f. Landwirtsch. 1907. p. 356.

Tabelle XXVIII.

Versuchsreihe No.	Bodenart und -behandlung	Stickstoffgehalt der Bodentrockensubstanz beim Versuchsbeginn Proz.	Höchster Stickstoffgewinn pro 1 g Kraftquelle mg
II 3	Rheintalsand mit $CaCO_3$ u. 1,9 Proz. Mannit	0,012	+ 7,0
XV 40	Rheintalsand mit $CaCO_3$ und 2 Proz. Mannit	0,015	+ 12,2
XXXI 60, 61	Versuchsfeldlehm von N III 1 mit $CaCO_3$ und 2 Proz. Mannit + 1 Proz. Dextrose	0,103	+ 10,1
XL 78	Versuchsfeldlehm von dem mit CaO gedüngten Beet N III 3 mit 1 Proz. Mannit + 1 Proz. Dextrose	0,076	+ 8,4
XLIII 84	Versuchsfeldlehm von dem mit MgO gedüngten Beet N III 4 mit 1 Proz. Mannit + 1 Proz. Dextrose	0,081	+ 9,1
XLVI 90	Versuchsfeldlehm von dem mit Volldüngung ohne N gedüngten Beet No. III 7 mit 1 Proz. Mannit + 1 Proz. Dextrose	0,073	+ 11,2
XLIX 96	Rheintalsand mit $CaCO_3$ + 2 Proz. Mannit	0,018	+ 8,8
LXIV 126	Quarzsand mit $CaCO_3$ und 2 Proz. Mannit	0,006	+ 3,6
LXV 128	Rheintalsand mit $CaCO_3$ und 2 Proz. Mannit	0,017	+ 5,1
LXVI 130	Kaolin mit $CaCO_3$ und 2 Proz. Mannit	0,010	+ 10,8
LXVII 132	Tonboden mit $CaCO_3$ und 2 Proz. Mannit	0,036	+ 7,3
LXVIII 135	Versuchsfeldlehm mit $CaCO_3$ von N III 2 mit 2 Proz. Mannit	0,078	+ 7,2
LXII 122, 123	Moorboden I mit $CaCO_3$ und 2 Proz. Mannit	1,808	Verlust
LXIII 124, 125	Moorboden II mit $CaCO_3$ und 2 Proz. Mannit	2,179	Verlust
LXXVI 150	Versuchsfeldlehm von N III 1 mit $CaCO_3$ und 1 Proz. Mannit + 1 Proz. Dextrose	0,096	+ 12,3

Anhaltspunkte. Die Sonderstellung der Moorböden wurde bereits erwähnt: ein Stickstoffgewinn konnte selbst bei jenen Versuchsreihen nicht festgestellt werden, in denen sich die im Impfboden zugeführten Azotobacter-Bakterien während der ganzen Versuchsdauer erhalten und anscheinend sogar vermehrt hatten. Möglich bleibt es aber, wie erwähnt, daß hier eine etwaige Stickstoffsammlung durch gleichzeitige Stickstoffverluste des Moores verdeckt wurde. Eine Sonderstellung scheinen sodann die sehr kalkreichen Böden einzunehmen, bei welchen in Versuch 5 besonders hohe Stickstoffgewinne erzielt wurden.

Eine Erklärung für den Befund wurde bereits zu geben versucht: In den sehr kalkreichen Böden dürfte der Wettbewerb aller gegen stark alkalische Reaktion empfindlichen Bodenorganismen zurückgedrängt werden, so daß die gegen Kalkkarbonat vollständig unempfindlichen Azotobacter-Bakterien die verfügbare Kraftquelle fast unverkürzt für sich verwenden können. In weniger kalkreichen Böden dagegen treten andere Bodenorganismen, welchen eine annähernd neutrale Bodenreaktion zusagt, als Nebenbuhler um die sparsam zugemessene Kraftquelle auf und kürzen infolgedessen den auf die Stickstoffsammler entfallenden Anteil. Im übrigen scheinen die feinkörnigen und schweren Böden in bezug auf Stickstoffsammlung unter sonst gleich günstigen Voraussetzungen den grobkörnigen und leichten Böden überlegen zu sein. Bei diesen vorläufigen Feststellungen müssen wir es vorderhand bewenden lassen. Die Ursachen für die erwähnten Verschiedenheiten im Verhalten der Bodengemengteile zu ermitteln, muß weiteren Versuchen vorbehalten bleiben. Ebenso bleibt festzustellen, inwieweit bei natürlich gelagerten Böden Modifikationen eintreten. Sie sind von vornherein zu erwarten, da der Einfluß der mechanischen Gemengteile auf das Gefüge des Bodens und die von ihm abhängige Durchlüftungsfähigkeit bei einer flach und lose ausgebreiteten Bodenprobe ganz ausgeschaltet wird.

8. Zusammenfassung der Ergebnisse der Versuche 1 bis 7.

Im ganzen führen die im Hauptabschnitt II beschriebenen Untersuchungen zu folgenden Gesichtspunkten:

1) Die künstliche Versorgung mit einer passenden Kraftquelle ist die unerläßliche Voraussetzung für eine ausgiebige Stickstoffsammlung in gewöhnlichen Ackererden.

2) Stallmist in den ersten Zersetzungsstadien scheint für die stickstoffsammelnden Kleinlebewesen eine wenig ausgiebige Kraftquelle zu bilden.

3) Auch die benutzten Versuchsböden enthalten weder an sich, noch nach erfolgter Neutralisation die für eine ausgiebige Stickstoffsammlung erforderliche Kraftquelle. Kleinere Stickstoffgewinne des Bodens waren aber auch ohne künstliche Zufuhr einer Kraftquelle besonders bei nicht zu humusarmer Erde und genügendem $CaCO_3$-Gehalt des Bodens fast regelmäßig zu verzeichnen. Es ist demnach wohl sicher, daß die stickstoffsammelnden Bodenorganismen auch mit bestimmten Humusprodukten als Kraftquelle Stickstoff sammeln.

4) Freie Säuren schließen unter den gewählten Versuchsbedingungen jede erhebliche Stickstoffsammlung im Boden aus. Aber schon die einfache Neutralisation mit Kalk, Magnesia oder spontane Entsäuerung ebnet den Stickstoffsammlern die Wege so, daß sie die verfügbare Kraftquelle mit sehr guter Nutzwirkung zu verwerten vermögen.

5) Eine den Neutralisationspunkt überschreitende Kraftzufuhr wirkt zunächst nur wenig fördernd auf die Stickstoffsammlung ein, während sehr hohe Kalkgehalte die Stickstoffsammler auf Kosten der gegen hohe Alkalitäten empfindlichen Bodenorganismen zu begünstigen scheinen.

6) Aequivalente Mengen von Kalk und Magnesia vermochten sich in ihrer Wirkung auf die Stickstoffsammlungsvorgänge fast vollständig zu vertreten, während Kali und besonders Natron in Form ihrer Karbonate weniger günstig wirkten.

7) Feste Beziehungen zwischen der Stickstoffsammlung und dem

Gehalte der Versuchsböden an gebundenem Stickstoff konnten nicht festgestellt werden.

8) In Moorböden konnte ein Stickstoffgewinn in keinem Falle nachgewiesen werden. Von den mineralischen Bodengemengteilen leisteten die feinkörnigen der Stickstoffsammlung anscheinend mehr Vorschub als die grobkörnigen, wenn man von dem Einfluß des natürlichen Gefüges der Böden absieht.

V. Stickstoffsammlungs- und Vegetationsversuche mit größeren Erdmengen.

Nachdem es in der vorbeschriebenen Weise in zahlreichen Fällen gelungen war, bakterielle Stickstoffsammlung in kleinen Bodenproben sicher nachzuweisen, wurden die Versuche unter Benutzung der gesammelten Erfahrungen auf größere Erdmengen ausgedehnt. Zu dem Zwecke wurden zunächst am 22. Febr. 1908 900 kg des wiederholt benutzten Rheintalsandes durch Sieben von gröberen Beimengungen befreit, mit 1 Proz. Impferde von der Versuchsfeldparzelle N III 7 und pro 100 kg mit 60 g Thomasphosphat versetzt, sorgsam gemischt und in 3 Portionen zu je 300 kg eingeteilt. Diese wurden am 22. Febr. mit 15 Proz. Wasser in ca. 10 cm hoher Schicht auf einen luftigen, geheizten Bodenraum ausgebreitet und zwar:

I. ohne weitere Behandlung,

II. nach Zusatz der zur Neutralisation und zur Erhöhung der Basizität auf 0,25 Proz. CaO-Wert erforderlichen Menge Calciumkarbonat,

III. nach Zusatz der bei II erwähnten Calciumkarbonatmenge und von 2 Proz. Saccharose in 2 Teilgaben zu je 1 Proz. am 22. Febr. und 7. März.

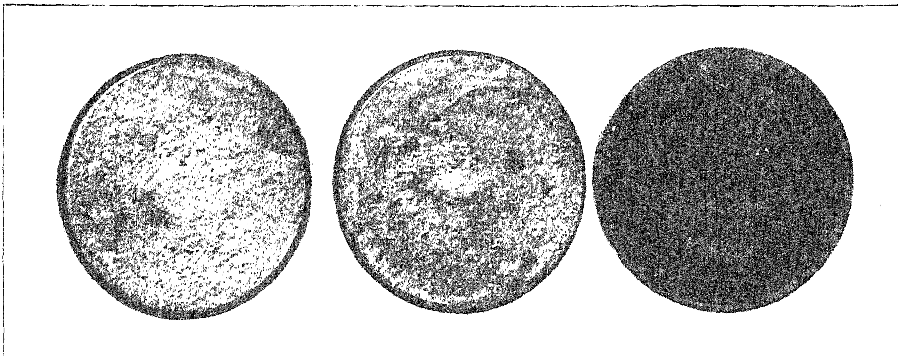
Die Temperatur des Lagerraums schwankte zwischen 20° und 25° C. Durch tägliches Ueberbrausen wurde der Wassergehalt des Bodens stets annähernd auf der ursprünglichen Höhe erhalten und durch häufiges Umstechen für tunlichst ausgiebige Durchlüftung des Bodens gesorgt. Das Ergebnis der in den ersten Apriltagen vorgenommenen Bodenuntersuchung folgt nachstehend:

Tabelle XXX.

Probe	Versuchsreihe	Verbrauch an Titerlauge in $^1/_{100}$ ccm für 20 g lufttrockenen Boden: 1	2	3	Mittel (m)	Fehler des Mittels (mx)	Stickstoff in 20 g Boden mg	Im lufttrock. Boden Trockensubst. Proz.	Im Trockenboden Stickstoff Proz.	In 1 kg Trockenboden Stickstoff mg	Stickstoffgewinn in mg pro 1 kg Boden	1 g Saccharose	Alkalität (+) bez. Azidität (−) in CaO-Aquivalent für 1 kg Trockenboden Proz.
I	LXXXI	100	110	90	100	±5,77	3,2285±0,18	99,6	0,0162	162±8,0	.	.	−0,020
II	LXXXII	110	90	100	100	±5,77	3,2285±0,18	99,6	0,0162	162±8,0	.	.	+0,167
III	LXXXIII	190	190	180	187	±3,34	6,0370±0,10	99,5	0,0303	303±8,0	141,0±11,3	7,05	+0,192

Mit den so vorbehandelten Böden wurde in der beim nächsten Versuch beschriebenen Weise ein Vegetationsversuch in Tongefäßen eingeleitet. Er hatte in Uebereinstimmung mit manchen älteren Versuchen das Schicksal, ergebnislos zu bleiben, weil zuerst der gepflanzte Senf und darauf nicht minder die ihm folgenden Rüben in dem gezuckerten

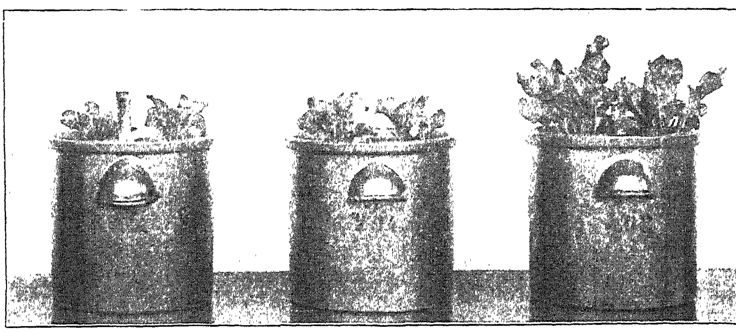
Erläuterung: Kalkplattenbilder von dem zum Vegetationsversuch benutzten Rheintalsand. Unter den Bildern das Reihenzeichen, die Sonderbehandlung und die Stickstoffsammlung in mg pro 1 kg Trockenboden bis zum Beginn des Vegetationsversuches.



LXXXIV. Roher Boden. ± 0 mg | LXXXV. Gekalkt. 22,0 ± 8.6 mg | LXXXVI. Gekalkt u. 2 Proz. Saccharose. 103 ± 6,4 mg

Erläuterung: Zuckerrüben in den obigen Böden wachsend. Ueber den Töpfen das Reihenzeichen.

I. II. III.



Erläuterung: Mais in den obigen Böden wachsend. Ueber den Töpfen das Reihenzeichen. Die Sonderbehandlung des Bodens ergibt sich aus der obersten Bilderreihe dieser Tafel.

I. II. III.



Boden total erkrankten und zuletzt eingingen. Ueber ähnliche Erfahrungen berichteten bereits Gerlach und Vogel[1]), Haselhoff und Bredemann[2]), sowie A. Koch[3]).

Also auch bei größeren Erdmengen ist eine ansehnliche Stickstoffsammlung leicht nachweisbar, sobald für Säurebindung und eine geeignete Kraftquelle Sorge getragen wird.

Zur Durchführung eines zweiten Versuches wurden 300 kg Rheintalsand am 9. Mai 1908 gesiebt, mit 2 Proz. Impferde von No. III 7 und 50 g 18-proz. Thomasphosphat versetzt, sorgfältig gemischt, dann zu 100 kg portioniert wie beim Vorversuch und reihenweise der folgenden Sonderbehandlung unterzogen:

I. blieb unbehandelt,

II. erhielt die zur Neutralisation und Erhöhung der Basizität auf 0,25 Proz. CaO erforderlichen 540 g $CaCO_3$ pro 100 kg.

III. erhielt dieselbe Kalkmenge wie II, außerdem am 8. Mai und 21. Mai je 1 Proz. Saccharose als Kraftquelle.

Die weitere Behandlung entsprach der des Vorversuches in allen Punkten. Am 20. Juni wurden die so behandelten Böden nach sorgfältiger Mischung untersucht und zu einem Vegetationsversuch benutzt. Das Ergebnis der Untersuchung folgt zunächst:

Tabelle XXXI.

Versuchsreihe	Verbrauch an Titerlauge in $^1/_{100}$ ccm für 20 g lufttrockenen Boden				Mittl. Fehler des arithmetisch. Mittels	Stickstoff in der untersuchten Substanz	Im lufttrock. Boden Trockensubst.	In der Trockensubst. Stickstoff	Alkalität (+) bez. Azidität (—) in CaO-Aequivalent für Trockenboden	In 1 kg Boden Stickstoff	Stickstoffgewinn in mg pro	
	1	2	3	Mittel	(m_x)	mg	Proz.	Proz.	Proz.	mg	1 kg Boden	1 g Saccharose
LXXXIV	110	100	100	103,3	±2,79	3,33±0,09	99,6	0,0167	0,0778	167±4,5	.	.
LXXXV	120	110	110	116,7	±4,09	3,77±0,13	99,6	0,0189	0,208	189±6,6	+22 ±8,6	.
LXXXVI	160	170	170	166,7	±2,79	5,38±0,09	99,6	0,0270	0,262	270±4,5	+103±6,4	+5,2

Die Vegetationsbilder der mit Böden aus den verschiedenen Reihen geimpften Kalkplatten gibt Taf. XI wieder.

Zum Vegetationsversuch wurde die Erde am 20. Juni durch sorgsames Mischen vorbereitet, nachdem sie für je 10 kg eine Grunddüngung von 0,4 g K_2O als KCl, 0,21 g P_2O_5 als Superphosphat und 0,20 g Stickstoff als Natronsalpeter erhalten hatte. Diese Grunddüngung wurde am 7. Juli durch eine Gabe von 1 g Diakaliumphosphat ergänzt. Die weitere Versuchsanordnung ergibt sich aus der nachfolgenden Zusammenstellung:

(Siehe Tabelle XXXII p. 628.)

Jedes Gefäß der Reihe III enthielt demnach 3,321—2,273 = 1,048 g gesammelten Stickstoff. Aufgang und Entwickelung erfolgten jetzt störungslos. Nach der 1. Ernte erfolgte noch eine 2. Einsaat von weißem Senf, der ebenfalls ein durchaus normales Wachstum zeigte. Alles Nähere bezüglich der Versuchsdurchführung und des Versuchsergebnisses ergibt Tab. XXXIII:

(Siehe Tabelle XXXIII p. 628.)

1) Fühlings landw. Zeitg. Bd. LII.
2) Landw. Jahrbücher. 1906.
3) Journ. f. Landw. 1907. p. 388.

Tabelle XXXII.

	Reihe I. Roher Boden	Reihe II. Boden mit Calciumkarbonat	Reihe III. Boden mit Calciumkarbonat und 2 Proz. Saccharose
Erdinhalt eines Gefäßes in Trockenboden kg	11,82	11,97	12,03
Stickstoff in der Trockensubstanz Proz.	0,0167	0,0189	0,0270
Stickstoff pro Gefäß g (ausschl. Dünger)	1,974	2,262	3,321
Bepflanzt am 20. Juni mit Kohlrüben Gefäße No.	282, 283	290, 291	298, 299
Bepflanzt am 20. Juni mit Senf „ „	284, 285	292, 293	300, 301
Bepflanzt am 20. Juni mit Zuckerrüben „ „	286, 287	294, 295	302, 303
Bepflanzt am 20. Juni mit Mais „ „	288, 289	296, 297	304, 305

Tabelle XXXIII.

Reihe und Sonderbehandlung	Pflanze	Gefäß No	Ernte I: Tag	Ernte I: Vom Gefäß Trockensubstanz g	Ernte I: In der Trockensubstanz Stickstoff Proz.	Ernte I: In der Gefäßernte Stickstoff g	Ernte I: Reihenmittel	Ernte II[1]: Gefäß Senftrockensubstanz g	Ernte II[1]: Darin Stickstoff Proz.	Ernte II[1]: In der Gefäßernte Stickstoff g
I Unbehandelt (LXXXIV)	Kohlrübe	282	31. Juli	17,2	1,60	0,275	} 0,270	12,5	.	.
		283	31. „	15,7	1,69	0,265		14,7	.	.
	Senf	284	20. „	7,0 } 6,8	2,19	0,149	0,149	14,2	.	.
		285	20. „	6,6				12,5	.	.
	Zuckerrübe	286	10. Aug.	5,2 } 5,35	2,99	0,160	0,160	16,5	.	.
		287	10. „	5,5				14,5	.	.
	Mais	288	20. „	35,1	0,90	0,316	} 0,321	13,0	.	.
		289	20. „	34,7	0,94	0,326		12,5	.	.
	Gruppenmittel	.	.	.	.	.	0,225	13,8	2,54	0,351
II Gekalkt (LXXXV)	Kohlrübe	290	31. Juli	12,0	1,66	0,199	} 0,215	15,0	.	.
		291	31. „	12,7	1,81	0,230		10,0	.	.
	Senf	292	20. „	6,6 } 6,3	2,34	0,147	0,147	14,0	.	.
		293	20. „	6,0				11,7	.	.
	Zuckerrübe	294	10. Aug.	7,7 } 6,95	2,89	0,201	0,201	16,0	.	.
		295	10. „	6,2				9,5	.	.
	Mais	296	20. „	34,2	0,89	0,304	} 0,305	17,5	.	.
		297	20. „	28,5	1,07	0,305		10,5	.	.
	Gruppenmittel	.	.	.	.	.	0,217	13,0	2,54	0,330
III Gekalkt und mit 2 Proz. Saccharose behandelt (LXXXVI)	Kohlrübe	298	31. Juli	24,0	1,92	0,461	} 0,428	17,5	.	.
		299	31. „	20,0	1,97	0,394		14,0	.	.
	Senf	300	20. „	14,2 } 13,9	2,44	0,339	0,339	11,7	.	.
		301	20. „	13,6				17,5	.	.
	Zuckerrübe	302	10. Aug.	22,7	1,96	0,445	} 0,457	21,5	.	.
		303	10. „	22,0	2,13	0,469		17,5	.	.
	Mais	304	20. „	70,0	0,92	0,644	} 0,626	14,0	.	.
		305	20. „	69,0	0,88	0,607		13,0	.	.
	Gruppenmittel	.	.	.	.	.	0,463	15,8	2,65	0,418

1) Die 2. Bestellung erfolgte bei allen Gefäßen sofort nach der 1. Ernte. Ueberall wurde weißer Senf eingesäet, der gleichmäßig mit 0,30 g Salpeterstickstoff und 1,0 g K_2HPO_4 pro Gefäß gedüngt wurde.

Aus der Tabelle ergibt sich folgende Mehraufnahme an Stickstoff in Gruppe III (gezuckerter und gekalkter Boden) gegenüber der übrigens gleich behandelten, aber mit ungezuckertem Boden durchgeführten Gruppe II:

			1) In mg pro Gefäß	2) In Proz. des gesammelten Stickstoffs
I. Ernte	1) Durch Senf bis zum 20. Juli	i. M.	0,192	18,3
	2) Durch Kohlrüben bis zum 31. Juli	i. M.	0,213	20,3
	3) Durch Zuckerrüben bis zum 10. Aug.	i. M.	0,256	24,4
	4) Durch Mais bis zum 10. Aug.	i. M.	0,321	30,6
	Im Mittel von 1—4		0,246	23,4
II. Ernte im Durchschnitt aller Gefäße			0,088	8,4
	I. u. II. Ernte zusammen		0,334	31,8

Die Wirkung des durch die Bakterien gesammelten Stickstoffs entspricht nach Art und Stärke wohl am meisten der des organischen Stickstoffs in seinen schneller wirkenden Formen. Auch die den Stand der Rüben- und Maistöpfe kurz vor der Ernte veranschaulichenden Bilder auf Taf. XI zeigen recht drastisch die Ueberlegenheit des durch Vermittelung des Zuckers mit Bakterienstickstoff angereicherten Bodens.

Die 2 letzten Versuche bestätigen also, daß genau wie bei Laboratoriumsversuchen auch in größeren Erdmengen eine ansehnliche Stickstoffsammlung stattfindet, sobald für Säurebindung und eine geeignete Kraftquelle Sorge getragen wird. Weiter zeigt sich in vollständiger Uebereinstimmung mit den Versuchen von A. Koch, daß der durch Bakterienvermittelung gesammelte Stickstoff für die höhere Pflanze eine durchaus geeignete Stickstoffquelle darstellt, die zwar langsam fließt, in ihrer Gesamtwirkung aber nicht hinter den wirksamsten organischen Stickstoffdüngern zurückbleibt.

VI. Einige Beobachtungen und Erörterungen über die Stickstoffsammlung im Felde.

Die bei den Laboratoriumsuntersuchungen gefundenen großen Unterschiede im Stickstoffansammlungsvermögen der vom Dauerdüngungsversuch des Poppelsdorfer Versuchsfeldes herrührenden Bodenproben ließen von vornherein Unterschiede im Stickstoffgehalte des Bodens auf den verschiedenen Parzellen des Versuchs erwarten. Auf die Schwierigkeiten, die Bewegungen im Stickstoffkapital des Bodens zu verfolgen, ist besonders von Thiele[1]) und Pfeiffer[2]) hingewiesen. Da aber die das unterschiedliche bakterielle Verhalten bedingende Sonderdüngung der Parzellen unseres Dauerversuches bereits 13 Jahre qualitativ unverändert fortgesetzt ist, konnte mit einiger Wahrscheinlichkeit auf eine derartige Wirkungshäufung gerechnet werden, daß sich die Veränderungen im Stickstoffbestande des Bodens der analytischen Feststellung nicht mehr entziehen. Deshalb wurden Ende März 1908 von dem zu den vorerwähnten Untersuchungen benutzten Feldstreifen N III Erdproben entnommen, getrocknet und nach sorg-

1) u. 2) a. a. O.

samer Zerkleinerung der gröberen Bestandteile auf Stickstoff untersucht. Die Probenahme erfolgte derart, daß je 10 Pröbchen bis auf 25 cm Tiefe ausgehoben und zu einer größeren Untersuchungsprobe vereinigt wurden. Um einen Anhalt für die Fehlergröße bei der Probenahme zu erhalten, wurden von jedem Beet 3 in der angegebenen Weise entnommene Proben untersucht. Das Ergebnis ist in der nachfolgenden Tab. XXXIV vereinigt.

Tabelle XXXIV. Stickstoffgehalt der Versuchsfeldböden von N III.

Parzelle	Probe	Verbrauch an Titerlauge in $^1/_{100}$ ccm (1 ccm = 3,365 mg N) für 20 g lufttrockenen Boden				Mittlerer Fehler des Mittels	In 20 g lufttrockenem Boden Stickstoff	Im Mittel aller Bestimmungen für eine Parzelle				im Boden[1]) auf 30 cm Tiefe Stickstoff	Gewinn (+) bezw. Verlust (—) gegenüber ungedüngt N III 2 pro ha kg
		a	b	c	Mittel		mg	in 20 g lufttrockenem Bodenstickstoff mg	in 20 g lufttrockenem Boden Trockensubstanz g	i. Trockenboden Stickstoff Proz.		kg	
N III 1	1	570	560	560	563	± 3,34	18,9 ± 0,11	18,69 ± 0,18	19,16	0,098 ± 0,0009		3234 ± 30	+ 297 ± 61
	2	580	560	560	567	± 6,67	19,1 ± 0,22						
	3	540	540	530	537	± 3,34	18,1 ± 0,11						
N III 2	1	490	480	470	480	± 5,77	16,15 ± 0,19	17,18 ± 0,31	19,32	0,089 ± 0,0016		2937 ± 53	—
	2	550	540	540	543	± 3,34	18,24 ± 0,11						
	3	510	510	510	510	± 0	17,16 ± 0						
N III 3	1	440	440	440	440	± 0	14,80 ± 0	14,96 ± 0,08	19,12	0,078 ± 0,0006		2574 ± 20	— 363 ± 57
	2	440	450	450	447	± 3,34	15,04 ± 0,11						
	3	460	440	440	447	± 6,67	15,04 ± 0,22						
N III 4	1	450	470	450	457	± 6,67	15,38 ± 0,22	15,75 ± 0,12	19,42	0,081 ± 0,0006		2673 ± 20	— 264 ± 57
	2	470	470	470	470	± 0	15,81 ± 0						
	3	470	480	480	477	± 3,34	16,05 ± 0,11						
N III 7	1	440	430	440	437	± 3,34	14,70 ± 0,11	14,80 ± 0,08	19,50	0,076 ± 0,0004		2508 ± 13	— 429 ± 55
	2	430	440	450	440	± 5,77	14,80 ± 0,19						
	3	440	450	440	443	± 3,34	14,90 ± 0,11						

Der Befund mag zunächst befremden. Zwar entziehen sich gewisse Unterschiede im Stickstoffgehalte der Böden der analytischen Bestimmung nicht. Aber statt der erwarteten Stickstoffanhäufung finden wir auf den mit Kalk gedüngten Azotobacter-reichen und nach Zusatz einer Energiequelle im Laboratorium lebhaft stickstoffsammelnden Beeten 3, 4 und 7 regelmäßig eine erhebliche Stickstoffverarmung. Gegenüber der ungedüngten Parzelle beträgt dieser Mindergehalt durchschnittlich in Kilogramm pro Hektar auf 30 cm Bodentiefe z. B.:

auf Parz. 3 — 363 ± 57 kg
„ „ 4 — 264 ± 57 „
„ „ 7 — 429 ± 55 „

Eine ganz gleichsinnige Beobachtung machten S. u. H. Krzemieniewski[2]). Trotz reichlicheren Vorkommens von Azotobacter enthielten gekalkte Parzellen nur 0,0768 bis 0,0850 Proz. Stickstoff gegenüber 0,0881 bis 0,1091 bei ungekalkten Vergleichsparzellen. Trotzdem

1) Volumgewicht = rund 1,1.
2) Bulletin de l'Académie d. sc. de Crocovie v. Juli 1906. p. 561.

läßt sich dieser Befund nicht als Beweis gegen die Möglichkeit einer stärkeren Stickstoffsammlung auf den Kalkbeeten verwerten. Denn der in jedem Augenblick vorhandene Bodenvorrat an Stickstoff gibt allein keine Grundlage für eine Bilanz ab. Vielmehr sind außerdem zu berücksichtigen:

1) Die während der Dauer des Versuches in den Ernten entzogenen Stickstoffmengen.

2) Die Stickstoffverluste des Bodens durch Versickerung und Salpeterzerstörung während desselben Zeitraums.

Die in den Ernten enthaltenen Stickstoffmengen bilden natürlich die Resultierende aus dem Ertrag der Parzellen und dem Stickstoffgehalt der Ernteprodukte. Beide Größen sind im vorliegenden Falle nicht regelmäßig ermittelt. Aber die vorhandenen Aufzeichnungen zeigen wenigstens so viel, daß in den Ernten der gekalkten und mit Magnesia gedüngten Parzellen 3, 5 und 7 weit mehr Stickstoff enthalten war als in jenen der übrigen Parzellen. Von der augenblicklichen Größe der Mehrerträge auf den mit Kalk gedüngten Parzellen geben die Ertragszahlen der letzten Jahre eine Vorstellung. Es wurden geerntet in Kilogramm pro 1 a:

Parzelle	1906								1907				
	Inkarnatklee (grün)	Zuckerrüben	Sommergerste	Roggen	Kartoffeln	Hafer	Rotklee	Weizen	Hafer	Kartoffeln	Erbsen	Roggen	Zuckerrüben
1	292	108	56	108	132	164	424	108	95	240	56	96	293
2	136	12	32	84	78	112	324	54	64	96	40	90	90
3	20	106	32	88	54	132	412	58	69	64	32	96	225
4	88	104	34	84	64	132	444	72	74	70	40	88	209
7	368	146	44	96	110	144	444	66	88	170	70	94	316

Parzelle	1908					
	Zuckerrüben		Weizen (lufttrocken)	Wickenheu	Kartoffeln [1]	Roggen
	a) Laub u. Köpfe	b) Rüben				
1	250	284	97	170	80	113
2	182	122	88	114	27	94
3	190	190	99	59	17	96
4	190	194	90	109	23	94
7	194	239	103	153	61	103

Infolge totaler Erschöpfung an Kali beginnt die Kalkparzelle 3 besonders bei kalidüngerbedürftigen Pflanzen allerdings mit zunehmender Häufigkeit zu versagen. Trotzdem ist sie der Parzelle 2 (ungedüngt) durchschnittlich im Ertrage noch deutlich überlegen. Viel mehr gilt das aber für Parzelle 7, wo durch Kaliphosphorsäurebeigaben zur Kalkmagnesiadüngung eine Erschöpfung an mineralischen Nährstoffen verhindert ist. Ohne Ausnahme zeigt sich hier eine meist starke Ertragsüberlegenheit über die ungedüngte Parzelle 2. Seit wann sie hervortritt, vermag Berichterstatter, in dessen Hand die Versuchsfeldleitung erst

1) Stark erkrankt.

seit 1905 liegt, nicht genau festzustellen. Doch zeigen die vorliegenden Aufzeichnungen, daß die Ertragsüberlegenheit der gekalkten Parzellen schon im ersten Versuchsjahr in die Erscheinung trat. Für die später zu Streifen III vereinigten Feldteile V u. VI, auf welche sich die vorgenommenen Stickstoffbestimmungen beziehen, mögen die in älteren Institutsakten aufgefundenen Zahlen folgen:

		Ertrag für kg in 1 a									
		Parzelle 1		Parzelle 2		Parzelle 3		Parzelle 4		Parzelle 7	
		V	VI	V	VI	V	VI	V	VI	V	VI
1896	Erbsen Körner	11,2	—	7,8	—	13,6	—	11,2	—	14,0	—
	Erbsen Stroh	25,2	—	13,8	—	16,0	—	18,4	—	20,8	—
1898	Kartoffeln	248	—	176	—	198	—	200	—	236	—
1903	Roggen Körner	34	—	32	—	36	—	38,8	—	37,2	—
	Roggen Stroh	76	—	68	—	74	—	69,2	—	82,8	—
	Zuckerrüben Rüben	—	317	—	156	—	297	—	170	—	362
	Zuckerrüben Laub	—	414	—	192	—	314	—	247	—	328
1904	Gerste Körner	—	12,0	—	7,2	—	8,0	—	8,8	—	12,8
	Gerste Stroh	—	40,0	—	22,0	—	26,0	—	30,0	—	38,0
1905	Gerste Körner	22,4	—	16,0	—	16,4	—	18,4	—	20,0	—
	Gerste Stroh	41,6	—	28,0	—	31,6	—	33,6	—	38,0	—

Daß der Mehrertrag der Kalk- und Magnesiaparzellen nicht auf Kosten des Stickstoffgehaltes erzielt ist, mögen einige Untersuchungsergebnisse aus den letzten Jahren beweisen. Es betrug z. B. der Stickstoffgehalt in Prozent der Trockensubstanz:

Jahr	Beet	Roggen (blühend)	Weizen (blühend)
1905	2	0,79	1,10
	3	0,85	1,32
	4	0,93	1,20
1906	1	0,96	0,87
	2	1,02	1,03
	3	1,24	1,20
	4	1,11	0,84
	7	1,04	1,58
1908	2	0,85	
	3	0,97	
	4	1,06	
	7	0,89	

Weitere Stickstoffbestimmungen in den Ernteprodukten haben nicht stattgefunden. Nach Ausweis der obigen Zahlen liegt aber der Stickstoffgehalt der Erntesubstanz auf den gekalkten Parzellen 3 und 7 bei Roggen und Weizen stets höher, als auf der ungedüngten Parzelle. Was für jene gilt, wird auch für die übrigen Gewächse zutreffen. Demnach ist kaum daran zu zweifeln, daß die Stickstoffentnahme durch die Ernte unter dem Einfluß des Kalks größer geworden ist, weil sowohl der Ertrag als auch der prozentische Stickstoffreichtum infolge der Kalkung gewachsen sind. Verteilt man die analytisch festgestellte Erschöpfung des Bodenvorrates an Stickstoff auf die 13 Versuchsjahre, so würde sich die jährliche Verminderung

bei Parzelle 3 auf $\frac{363}{13}$ = 27—28 kg

„ „ 4 „ $\frac{264}{13}$ = 19—20 „

„ „ 7 „ $\frac{429}{13}$ = 40—41 „

pro Hektar stellen. Wird nun dieser Fehlbetrag bei den gekalkten Beeten durch die Mehrentnahme von Stickstoff in der Ernte gedeckt? Die vorhandenen Unterlagen ermöglichen nur den nachfolgenden Ueberschlag. In ihm ist der Stickstoffbedarf für die gegenwärtig gültige Rotation auf Grund der für 1907 vorliegenden Erntezahlen und der im Kalender von Mentzel und Lengerke aufgeführten Stickstoffzahlen berechnet. Daß bei Benutzung dieser durchschnittlichen Gehaltszahlen die Stickstoffentnahme zugunsten der gekalkten Parzellen eher unter- als überschätzt wird, dürfte nach Ausweis der oben mitgeteilten Untersuchungsergebnisse sicher sein.

Tabelle XXXV.

Pflanze		Für 1 ha in dz bezw. kg				
		1	2	3	4	7
Hafer	Ertrag. Gesamternte dz	95	64	69	74	88
	Bei 0,9 Proz. Stickstoff in der l. S. Stickstoff kg	85,5	57,6	62,1	66,6	79,2
Kartoffeln	Ertrag an Knollen	240	96	64	70	170
	Bei 0,3 Proz. Stickstoff in den Knollen Stickstoff kg	72,0	28,8	19,2	21,0	51,0
	Dazu 25 Proz. für Laub	18,0	7,2	4,8	5,3	12,8
	Zusammen	90,0	36,0	24,0	26,3	63,8
Erbsen	Ertrag. Gesamternte	56	40	32	40	70
	Bei 2,08 Proz. Stickstoff in der l. S. Stickstoff kg	116,5	83,2	66,6	83,2	145,6
Roggen	Ertrag. Gesamternte	96	90	96	88	94
	Bei 0,86 Proz. Stickstoff in der l. S. Stickstoff kg	82,6	77,4	82,6	75,7	80,8
Zuckerrüben	Ertrag an Rüben	293	90	225	204	316
	Bei 0,14 Proz. Stickstoff in den Rüben Stickstoff kg	41,0	12,6	31,5	28,6	44,2
	Ertrag an Laub und Köpfen	395	164	264	295	299
	Bei 0,32 Proz. Stickstoff im Laub Stickstoff kg	126,4	52,5	84,5	94,4	95,7
	Zusammen Stickstoff kg	167,4	65,1	116,0	123,0	139,9
In der Ernte von 1 ha Stickstoff kg	1) Hafer	85,5	57,6	62,1	66,6	79,2
	2) Kartoffeln	90,0	36,0	24,0	26,3	63,8
	3) Erbsen	116,5	83,2	66,6	83,2	145,6
	4) Roggen	82,6	77,4	82,6	75,7	80,8
	5) Zuckerrüben	167,4	65,1	116,0	123,0	139,9
	Im Durchschnitt aller Gewächse	108,4	63,9	70,3	75,0	101,9
	Im Durchschnitt der 4 Nichtleguminosen	106,4	59,0	71,2	72,9	90,9

Die berechnete Mehraufnahme gegen ungedüngt würde demnach betragen:

Parzelle und Düngung	a Im Durchschnitt aller Gewächse des Umlaufs	b Im Durchschnitt der Nichtleguminosen	Analytisch nachgewiesene Stickstoffverarmung pro ha und Jahr kg
1) Für Parzelle 3 (Kalk)	+ 6,4	+ 12,2	27—28
2) „ „ 4 (Magnesia)	+ 11,1	+ 13,9	19—20
3) „ „ 7 (Volldüngung ohne Stickstoff)	+ 38,0	+ 31,9	40—41

Schon nach diesem Ueberschlag wird die Bodenerschöpfung an Stickstoff auf den Kalk- und Magnesiaparzellen durch die in den Ernten enthaltenen Mengen zu einem erheblichen Teil gedeckt. Wahrscheinlich würde ein vollständiger Ausgleich eingetreten sein, wenn an Stelle der Durchschnittszahlen die wirklichen Stickstoffgehalte der Ernteprodukte eingesetzt wären, die sich, wie schon erwähnt, bei den ausgeführten Bestimmungen auf den gekalkten Beeten regelmäßig, auf dem Magnesiabeet mit einer Ausnahme stickstoffreicher erwiesen, als auf dem ungedüngten Beete. Im Mittel betrug der Mehrgehalt an Stickstoff nach Kalkdüngung 17—18 Proz., nach Magnesiadüngung 7 Proz. gegenüber ungedüngt. Unter Berücksichtigung dieser Erhöhung würde die Stickstoffentnahme auf Beet 3 nochmals um 12—13 kg, auf Beet 4 um 6—7 kg und auf Beet 7 um rund 18—19 kg pro Jahr und Hektar steigen, was zur vollständigen Deckung der festgestellten Bodenerschöpfung ausreichen würde.

Der aus dem Bodenvorrat der gekalkten Parzellen mehr mobilisierte Stickstoff wird aber natürlich nicht seiner ganzen Menge nach den Kulturpflanzen zugute kommen, sondern auch die Verluste durch Versickerung und Salpeterzerstörung werden größer gewesen sein, als auf den nicht gekalkten Parzellen. Für die zahlenmäßige Bestimmung dieser Verlustgröße fehlt leider jede Unterlage. Aber grundsätzlich ist es wohl zweifellos, daß die Verluste an Stickstoff bei gegebenem Boden um so höher steigen, je schneller und vollständiger die organischen Stickstoffverbindungen durch die Fäulnis und die Nitrifikation in löslichen, nicht absorptionsfähigen und der zerstörenden Wirkung der Bodenorganismen zugänglichen Salpeter verwandelt werden. Daß die Kalkung diese Vorgänge fördert, zeigt nicht nur die Mehraufnahme an Stickstoff durch die Ernte der Kalkparzellen, sondern auch die mit Proben desselben Versuches im Jahre 1903 von Wohltmann, Fischer und Schneider[1]) durchgeführte Untersuchung liefert die Bestätigung. Dabei ergab sich unter gleichen Außenbedingungen z. B. folgendes:

(Siehe Tabelle p. 635.)

Die Steigerung der biologischen Bodenkräfte zur Ueberführung des organischen Stickstoffes in Ammoniak und Nitrat durch Kalk- und Magnesiadüngung wird durch diese Zahlen besonders evident. Wie erwünscht das sein mag, solange stickstoffhungrige Kulturpflanzen auf dem Boden wachsen, in der vegetationslosen Periode erhöht die beschleunigte

1) Journ. f. Landw. 1904. p. 97—126.

Parzelle	Vom Stickstoff 1-proz. Peptonlösungen waren bei 18° C in 5 Tagen in Ammoniak übergeführt Proz.		Von dem Stickstoff zugesetzten Amonsulfats waren in 50 Tagen bei einer zwischen 16 und 22° schwankenden Temperatur nitrifiziert Proz.
	durch am 22. April entnommene Bodenproben	durch am 5. Mai entnommene Bodenproben	
1) Stallmist	18,9	7,4	36,1
2) Ungedüngt	15,8	6,3	14,1
3) Kalk	25,1	10,5	84,7
4) Magnesia	23,1	12,2	69,6
5) Volldüngung ohne Stickstoff	28,2	11,7	77,4

Nitrifizierung die Verlustgefahr für das Bodenstickstoffkapital zweifellos erheblich.

Von allen zahlenmäßigen Kalkulationen mag ihrer Unsicherheit wegen hier ganz abgesehen werden. Die vorhergehende grundsätzliche Feststellung möge vielmehr genügen, da nur dargetan werden sollte, daß die Bewegung im Stickstoffkapitale des Bodens an sich noch keine Rückschlüsse auf die Wirksamkeit der in ihm tätigen Gewinn- und Verlustquellen zuläßt, und daß infolgedessen eine analytisch nachweisbare Abnahme des Bodenvorrates an Stickstoff kein Beweis gegen eine lebhafte Tätigkeit der stickstoffsammelnden Bodenorganismen ist.

C. Rückblick und Ausblick.

In welchem Umfange und durch welche Maßnahmen können wir unter den Vorbedingungen des feldmäßigen Anbaues durch Vermittlung von Bodenorganismen den Luftstickstoff als Nahrung für unsere Kulturpflanzen am besten nutzbar machen? Das ist und bleibt die für die landwirtschaftliche Praxis ausschlaggebende Seite des Problems, zu dessen Lösung die mitgeteilten Untersuchungen einen Beitrag liefern sollen. Wir wissen mit Sicherheit, daß abgesehen von den Knöllchenbakterien der Hülsenfrüchtler zur Stickstoffsammlung befähigte Organismen, unter ihnen die besonders wichtigen Azotobacter-Arten, in den besseren Kulturböden in allgemeinster Verbreitung vorkommen. Es ist ferner durchaus sichergestellt, daß diese Kleinlebewesen nicht nur in geeigneten Nährlösungen, sondern auch im Boden bedeutende Stickstoffmengen zu sammeln vermögen, wenn ihnen eine passende organische Kraftquelle zur Verfügung gestellt wird. Berechtigen diese Feststellungen zu der Annahme, daß auch unter den Voraussetzungen des feldmäßigen Anbaues im Boden eine Stickstoffsammlung stattfindet? Der direkte sichere Nachweis einer solchen ist bei großen Bodenflächen nur möglich, wenn es sich um ganz bedeutende Stickstoffgewinne handelt, die aber bis heute nie sicher beobachtet sind. Die als Beweismittel für die Stickstoffsammlung im Boden so beliebten statischen Berechnungen vermögen nicht überzeugend zu wirken. Deshalb ist die Wirksamkeit der erwähnten Stickstoffsammler im natürlich gelagerten Boden nicht ohne eine gewisse Berechtigung in Zweifel gezogen[1]). Trotzdem ist es wahrscheinlich,

1) Vergl. z. B. Th. Pfeiffer, Stickstoffsammelnde Bakterien, Brache und Raubbau. Berlin (Parey) 1904. In einer neuen, erst nach beendigter Drucklegung dieses

daß wir den frei lebenden stickstoffsammelnden Mikroorganismen auch draußen im freien Felde gelegentlich ansehnliche Stickstoffgewinne zu verdanken haben. Wie groß diese Wahrscheinlichkeit ist, das wird vielleicht ein Bild am besten klarmachen. Angenommen, wir wüßten vom Rinde nicht mehr, als daß es im Stalle Milch zu geben vermag, daß die Voraussetzung dafür eine passende Pflege und die Verabfolgung einer gewissen Menge von Eiweiß, Fett und Kohlehydraten ist, daß weiterhin das Milchgeben eine fakultative, von Geschlecht, Alter und Lebenslage abhängige Fähigkeit der Rinder ist, und daß endlich dieselben Rinder, die unter den erwähnten Voraussetzungen Milch geben, auch in Feld und Wald verbreitet sind. Dürften wir dann annehmen, daß die draußen herumlaufenden Rinder auch Milch liefern, wiewohl sie abweichend von den im Stalle stehenden nur Eiweiß, Fett und Kohlehydrate enthaltende Kräuter zu fressen bekommen? Ich meine, die Frage läßt sich mit einem hohen Grade von Wahrscheinlichkeit bejahen. Genau so groß ist aber die Wahrscheinlichkeit, daß die Bakterien, welche im Glase und bei reichlicher Versorgung mit Kraftquelle Stickstoff sammeln, von dieser Fähigkeit auch im freien Felde Gebrauch machen, wiewohl die Lebenslage hier eine wesentlich andere ist und an Stelle der reinen Kraftquelle nur solche enthaltende Pflanzenreste zur Verfügung stehen.

Wie groß die Stickstoffsammlung im Felde ist, wissen wir nicht. Nur so viel ist sicher, daß das leider auch heute noch vielfach übliche Verfahren, die Stickstoffsammlung in einer Bodenprobe von etlichen 100 g auf das etwa 30000—40000 dz ausmachende Bodengewicht von 1 ha umzurechnen, zu ganz irrigen Vorstellungen hinsichtlich der Größe des Stickstoffgewinns führt. Eine derartige Umrechnung ist genau so sinnlos, als wenn man sagen würde: „In einem Stalle von 500 qm Größe stehen 50 Kühe, die täglich 500 Liter Milch liefern. Eine Weide von 1 ha oder 10000 qm ist 20mal so groß und reicht demnach auch für die Erzeugung der 20-fachen Milchmenge, also von 10000 Litern täglich aus.“ Berechtigter wäre es schon, zu schließen, daß die im Stalle stehenden Rinder täglich 7,5 dz Heu fressen und damit 500 Liter Milch erzeugen. Auf meiner 1 ha großen Weide wachsen jährlich etwa 75 dz Heu und diese reichen demnach für 5000 Liter Milch = 25—30 Liter täglich. Aber auch diese Zahl müßte noch gekürzt werden, wenn Hirsche und Rehe einen Teil des Weideertrages verzehren.

Dem Futter für die Milchkühe entspricht bei den Stickstoffsammlern die Kraftquelle. Deren verfügbare Menge auf einer bestimmten Feldfläche und das Verhältnis, in dem sich die Stickstoffsammler und ihre Nebenbuhler, welche den Hirschen und Rehen des Gleichnisses entsprechen, die Kraftquelle teilen, bestimmen das Maß der Stickstoffsammlung im freien Felde. Dabei eröffnen sich für ihre Ausgiebigkeit unter feldmäßigen Vorbedingungen aber keineswegs allzu rosige Aussichten. Denn in den mitgeteilten Untersuchungen liegt der höchste Stickstoffgewinn bei etwa 10 mg für 1 g Mannit. Annähernd dieselbe Nutzwirkung ist günstigsten Falls bei Versuchen in Beijerinckscher Mannitlösung gefunden. A. Koch erzielte ähnliche Stickstoffgewinne bei Verwendung von Dextrose, Saccharose und löslicher Stärke, die als Kraftquellen weit weniger exklusiv als Mannit sind. Jedes Kilogramm

Berichts erschienenen Arbeit (Bresl. Berichte. Bd. IV. Heft 5. 1909) gibt übrigens derselbe Autor seinen bisher nachdrücklich vertretenen ablehnenden Standpunkt preis und gibt Stickstoffgewinn durch freilebende stickstoffsammelnde Bakterien zu.

Stickstoffgewinn muß der Boden demnach mit rund 100 kg als Kraftquelle geeigneter organischer Substanz bezahlen. Wie sehr dieser Umstand der Stickstoffsammlung Grenzen setzt, zeigen folgende Erwägungen:

a) Die einzige Urkraftquelle der Bodenorganismen bilden Pflanzenreste und Humus, und deren Menge ist in der Regel schon eine sehr beschränkte.

b) Die Bakterien können nur gelöste Stoffe als Kraftquelle verwerten und auch diese nur dann, wenn sie der Form nach den besonderen, artlich wechselnden Anforderungen der Kleinlebewesen entsprechen. Daher dürfte in jedem Augenblick nur ein sehr geringer Anteil der Humussubstanzen als Kraftquelle für die Stickstoffsammler geeignet sein.

c) In diesen Anteil werden sich die Stickstoffsammler mit einer Reihe von anderen Bodenorganismen teilen müssen.

Genauere zahlenmäßige Vorstellungen von diesen Verhältnissen zu gewinnen, ist natürlich zunächst unmöglich. Doch mag eine ganz überschlägige Berechnung dartun, wie enge Grenzen der Stickstoffsammlung im natürlich gelagerten Boden durch die verfügbare Menge an Kraftquelle meist gesetzt sein dürften. Ein Boden enthalte 2 Proz. Humus. Bei einem Volumgewicht von 1,0 wären das pro Hektar auf 20 cm Tiefe, über welche hinaus sich die Wirksamkeit der luftbedürftigen Stickstoffsammler nicht erstrecken dürfte, 40000 kg Humus. Davon mögen 25 Proz. = 10000 kg in Jahresfrist eine Form annehmen, in der sie als Kraftquelle der Stickstoffsammler geeignet sind. Von diesen mag die Hälfte, 5000 kg, den Stickstoffsammlern, die andere Hälfte den Konkurrenten zugute kommen. Die Nutzwirkung der Kraftquelle des Bodens wird man wohl nicht unterschätzen, wenn man sie der Höchstwirkung des Mannits, der Dextrose und Saccharose gleichsetzt. In diesem Falle würden 100 kg Kraftquelle für 1 kg Stickstoffgewinn erforderlich sein. Also könnten mit den pro Hektar und Jahr disponiblen 5000 kg etwa 50 kg Stickstoff gesammelt werden. Ein Teil dieses Gewinns wird natürlich durch die mit Entstehung freien Stickstoffs verbundenen Zersetzungsvorgänge kompensiert, so daß der Nettogewinn noch erheblich niedriger liegen dürfte. Die Natur hat demnach in bezug auf die Stickstoffsammlung wirksamste Vorsorge getroffen, daß die Bäume nicht in den Himmel wachsen. Allerdings bleibt ein Stickstoffgewinn von nur 50 kg pro Jahr und Hektar des Mitnehmens wert. Worauf aber alle Maßnahmen zur möglichsten Nutzbarmachung der Stickstoffsammler des Bodens grundsätzlich hinauslaufen müssen, kann nach dem Gesagten nicht zweifelhaft sein. Es wird sich darum handeln:

1) Den Energieumsatz im Boden durch Humusvermehrung und beschleunigte Humuszersetzung tunlichst zu steigern.

2) Die Humuszersetzung durch Kulturmaßnahmen so zu leiten, daß die entstehenden Zerfallprodukte möglichst umfassend der Energiebestreitung der stickstoffsammelnden Organismen dienen können.

3) Durch ein den besonderen Bedürfnissen der Stickstoffsammler angepaßtes „Bodenklima" den Wettbewerb der indifferenten und schädlichen Kleinlebewesen um die Kraftquelle zugunsten der Stickstoffsammler tunlichst einzuschränken.

Welche praktischen Maßnahmen der Bodenkultur das unter 3 erwähnte Ziel verwirklichen helfen, dafür liefert die vorstehende Arbeit eine Reihe von Winken. Zu zeigen, wie die im Humus schlummernde Energie tunlichst ausgiebig der Stickstoffsammlung dienstbar zu machen, ist eine der nächstliegenden und schwierigsten Zukunftsaufgaben der bodenbakteriologischen Forschung.

Anhangstabelle XIIa. Untersuchung

Untersuchte Substanz	Angewandte Menge g	Verbrauch an Titerlauge in $^1/_{100}$ ccm a	b	c	d	e	Mittel (x)	Mittlerer Fehler des arithmetischen Mittels (m_x)
Boden	20	76 71	81 81	81 76	71 76	76 86	77,5	1,5
Rinderkot	10	1090	1104	1104	1090	1099	1097,4	3,2
Mannitlösung 1	Je 100 ccm = 2 g Mannit	14	19	19	19	19	18	1,0
„ 2		23	23	13	18	23	20	2,0
„ 3		13	13	18	13	13	14	1,0
„ 4		13	13	13	13	18	14	1,0

Anhangstabelle XIIb. Untersuchung der

Versuchsreihe	Einzelversuch No.	Tag der Untersuchung	Verbrauch an Titerlauge in $^1/_{100}$ ccm (1 ccm = 3,586 mg) für 20 g lufttrockenen Boden a	b	c	d	e	f	Mittel (x)	Mittlerer Fehler des arithmetischen Mittels (m_x)
I	1	15. 11. 07	80	80	80	80	80	80	80	± 0
	2	5. 12. 07	130	120	120	120	120	120	121,7	± 1,7
II	3	15. 11. 07	140	140	150	140	140	140	141,7	± 1,7
	4	10. 12. 07	110	120	120	120	120	120	118,3	± 1,7
III	5	15. 11. 07	70	70	70	70	70	70	70	± 0
	6	5. 12. 07	130	140	140	140	140	140	138,3	± 1,7
IV	7	15. 11. 07	140	150	140	140	140	140	141,7	± 1,7
	8	10. 12. 07	120	110	120	120	120	120	118,3	± 1,7
V	9	15. 11. 07	90	90	90	90	80	90	88,3	± 1,7
	10	10. 12. 07	90	90	80	90	90	90	88,3	± 1,7
VI	11	15. 11. 07	90	100	100	100	100	100	98,3	± 1,7
	12	10. 12. 07	90	80	90	90	80	80	85	± 2,2
VII	13	15. 11. 07	70	70	70	70	70	80	71,7	± 1,7
	14	5. 12. 07	80	80	80	80	80	80	80	± 0
VIII	15	15. 11. 07	80	70	70	70	70	70	71,7	± 1,7
	16	7. 12. 07	70	70	70	70	70	70	70	± 0
IX	17	15. 11. 07	70	70	70	70	70	70	70	± 0
	18	7. 12. 07	70	70	70	70	70	70	70	± 0
X	19	15. 11. 07	100	110	110	110	100	110	106,7	± 2,1
	20	5. 12. 07	160	160	150	160	160	160	158,3	± 1,7
XI	21	15. 11. 07	80	80	80	80	80	80	80	± 0
	22	9. 12. 07	100	100	100	100	100	100	100	± 0
XII	23	15. 11. 07	160	160	150	160	160	160	158,3	± 1,7
	24	10. 12. 07	170	180	180	180	180	180	178,3	± 1,7
XIII	25	15. 11. 07	80	70	80	80	80	80	78,3	± 1,7
	26	9. 12. 07	90	90	90	90	90	90	90	± 0
XIV	27	7. 12. 07	70	70	70	70	70	70	70	± 0
XV	28	15. 11. 07	110	110	110	110	100	110	108,3	± 1,7
	29	5. 12. 07	90	90	90	90	80	90	88,3	± 1,7

Mittlerer mittlerer Fehler für 20 g lufttrockenen

der zu Versuch 1 benutzten Materialien.

1 ccm Titerlauge entspricht Stickstoff mg	Angewandte Menge Trockensubstanz g	Darin Stickstoff mg	Pro Schale angewandte Menge Trockensubstanz g	Eingeführte Menge Stickstoffmenge pro Schale mg
3,1999	18,88	2,48 ± 0,05	400,00	52,58 ± 1,06
3,1999	1,62	35,12 ± 0,10	1,62	35,12 ± 0,10
3,1999	2,0	0,58 ± 0,03	2,00	2,04 ± 0,08
3,1999	2,0	0,64 ± 0,06	2,00	
3,5861	2,0	0,50 ± 0,04	2,00	
3,5861	2,0	0,50 ± 0,04	1,80	

Böden von Versuch 1 beim Versuchsabschluß.

In 20 g lufttrockenem Boden an Stickstoff g	Schaleninhalt an lufttrockenem Boden g	Darin Trockensubstanz Proz.	Schaleninhalt an Trockenboden g	Stickstoff im Boden pro Schale mg
2,87 ± 0	407,5	99,70	406,3	58,48
4,36 ± 0,06	403,2	99,70	402,0	87,90
5,08 ± 0,06	403,0	99.50	401,0	102,36
4,24 ± 0,06	404,1	99,70	402,9	85,67
2,51 ± 0	408,0	99,68	406,7	51,20
4,96 ± 0,06	405,1	99,70	403,8	100,46
5,08 ± 0,06	406,0	99,70	404,8	103,12
4,24 ± 0,06	404,4	99,50	402,4	85,73
3,17 ± 0,06	406,5	99,70	405,3	64.43
3,17 ± 0,06	402,7	99,56	400,9	63,83
3,53 ± 0,06	409,5	99,63	408,0	72,28
3,05 ± 0,08	405,6	99,66	404,4	61,85
2,57 ± 0,06	407,0	99,65	405,6	52,30
2,87 ± 0	405,1	99,66	403,8	58,13
2,57 ± 0,06	405,0	99,64	403,5	52,09
2,51 ± 0	404,3	99,68	403,1	50,74
2,51 ± 0	406,0	99,40	403,5	50,95
2,51 ± 0	406,8	99,65	405,6	51,05
3,83 ± 0,08	408,0	99,60	406,3	78,13
5,68 ± 0,06	403,8	99,65	402,6	114,68
2,87 ± 0	404,5	99,70	403,2	58,05
3,59 ± 0	403,2	99,72	402,1	72,37
5,68 ± 0,06	408,5	99,45	406,2	116,01
6,39 ± 0,06	405,4	99,80	404,6	129,60
2,81 ± 0,06	406,5	99,67	405,1	57,07
3,22 ± 0	404,9	99,74	403,9	65,27
2,51 ± 0	401,4	99,74	400,3	50,38
3,88 ± 0,06	405,5	99,73	404,4	78,74
3,17 ± 0,06	401,0	99,71	399,8	63,56

Boden = ± 0,05 mg Stickstoff.

Anhangstabelle XIId. Untersuchung der mit Bodenausschütte

Versuchsreihe No.	Sonderbehandlung	Stickstoffsammlung in Beijerinckscher Mannitlösung pro 100 ccm mg					Makroskopisches Aussehen der Beijerinckschen Mannitlösungen am 9. Tage
		a	b	c	d	Mittel	
I 2	Keine	11,5	10,4	9,3	11,1	10,6	Schleimige, weißgraue Oberflächenhaut. Starke Gasentwickelung
II 3	Mit $CaCO_3$ neutralisiert	12,2	11,8	14,3	.	12,8	Schöne, geschlossene, braune Azotobacterhaut. Keine sichtbare Gasentwickelung
II 4	Desgl.	11,8	14,3	14,0	10,0	12,5	Feine, durchsichtige Oberflächenhaut, weißgrau. Starke Gasentwickelung
III 5	Mit MgO neutralisiert	4,0	4,7	4,3	.	4,3	Keine Hautbildung. Starke Gasentwickelung
III 6	Desgl.	16,1	16,1	16,9	15,8	16,2	Dichte Oberflächenhaut, beginnende Bräunung. Keine sichtbare Gasentwickelung
IV 7	Mit K_2CO_3 neutralisiert	16,5	15,1	15,4	.	15,7	Geschlossene, braune Azotobacterhaut. Keine Gasentwickelung
IV 8	Desgl.	14,7	11,8	12,9	14,0	13,4	Geschlossene, braungelbe Azotobacterhaut. Wenig Gasentwickelung
V 10	Mit Na_2CO_3 neutralisiert	8,3	16,0	15,1	14,3	13,4	Aehnlich Reihe 2, nur b zeigt typische, braune Azotobacterhaut.
VI 11	Mit $CaCO_3$ überneutralisiert	14,3	13,6	15,4	.	14,4	Schwarzbraune Oberflächenhaut. Ohne Gasentwickelung
VI 12	Desgl.	17,9	17,6	17,6	17,9	17,8	Typische, braune Azotobacterhaut. Keine Gasentwickelung
VII 14	Mit MgO überneutralisiert	9,0	10,0	11,1	10,4	10,1	Schmutziggraue Oberflächenhaut. Schwache Gasentwickelung
VIII 16	Mit K_2CO_3 überneutralisiert	3,6	2,5	3,2	2,5	3,0	Keine Haut. Schwache Gasentwickelung
IX 17	Mit Na_2CO_3 überneutralisiert	4,3	3,6	4,6	.	4,2	Wie 16.
IX 18	Desgl.	2,5	2,9	2,5	4,0	3,0	Wie 16.
X 20	Rinderkot	9,0	13,6	11,1	8,6	10,6	Weißgraue, schleimige Oberflächenhaut. Starke Gasentwickelung
XI 22	$K_2H.PO_4$	16,5	16,5	16,5	16,9	16,6	Typische braune Azotobacterhaut. Keine Gasentwickelung
XII 23	Mit $CaCO_3$ übertralisiert und Rinderkot	16,9	17,6	17,2	.	17,2	Wie 22
XII 24	(desgl.)	13,6	14,3	15,1	14,3	14,3	Aussehen verschieden, überall Hautbildung. a und d starke, b und c keine sichtbare Gasentwickelung
XIII 26	Mit $CaCO_3$ überneutralisiert	11,8	15,1	16,1	19,4	15,6	Typische Azotobacterhaut. Keine Gasbildung
XIV 27	$K_2H.PO_4$ ohne Mannit	5,4	4,0	3,6	3,2	4,1	d ohne Haut, a—c typische Azotobacterhaut. d starke Gasentwickelung, a—c keine Gasentwickelung
XV 29	Mit $CaCO_3$ überneutralisiert, $K_2H.PO_4$, Rinderkot, ohne Mannit	14,0	13,6	15,4	15,8	15,0	Typische Azotobacterhaut. Schwache Gasentwickelung
	Blinde Mannitlösung					0,4	

lung geimpften Beijerinckschen Mannitlösungen und Kalkplatten.

Mikroskopischer Befund		Aussehen der Kalkplatten	
Haut	Flüssigkeit	Makroskopisch	Mikroskopisch
Viel Schimmel. Daneben Bakterien. Azotobacter mäßig vertreten	Viel Bakterien. Azotobacter mäßig vertreten	Dünner, graubrauner Rasen	Rasen besteht überwiegend aus Azotobactermassen
Ueberwiegend Azotobacter, daneben Kokken und Langstäbchen	Zahlreiche Bakterien. Azotobacter häufig Viele Amöben und Infusorien	Starker, braunschwarzer Rasen	Desgl.
Aehnlich 3	Aehnlich 3	Wie 2	Wie 2
Fehlt	Kokken und Stäbchen	Bakterienrasen fehlt vollständig	
Aehnlich 3	Aehnlich 3	Wie 2	Wie 2
Viel Schimmel u. Bakterien. Azotobacter überwiegend	Neben anderen Bakterien viel Azotobacter	Wie 3	Wie 2
Aehnlich 7	Aehnlich 7	Wie 2	Wie 2
Aehnlich 3	Aehnlich 3	Wie 2	Wie 2
Aehnlich 2, doch mehr Azotobacter	Aehnlich 7	Wie 3, etwas weniger stark	Neben Azotobacter auch Schimmelmycel
Aehnlich 3	Aehnlich 3	Wie 2	Viel Azotobacter
Viel Bakterien, Azotobacter nur in mäßiger Menge		Kein geschlossener Bakterienrasen, dagegen viele schleimige Einzelkolonieen	Wie 12
Fehlt	Bewegliche Stäbchen und Kokken. Kein Azotobacter	Bakterienrasen fehlt vollständig	
Fehlt	Wie 16, doch vereinzelt Azotobacter	Bakterienrasen fehlt vollständig	
Fehlt	Wie 17	Wie 14	Wie 12
Aehnlich 3	Aehnlich 3	Wie 2	Wie 2
Aehnlich 3	Aehnlich 3	Zwischen 2 und 3	Wie 2
Aehnlich 3	Aehnlich 3	Wie 3	Wie 3
Aehnlich 3	Aehnlich 3	Wie 3	Wie 3
Aehnlich 3, doch viel Schimmelmycel	Aehnlich 3	Wie 2	Wie 2
Aehnlich 3	Aehnlich 3	Wie 14	Wie 12
Aehnlich 3	Aehnlich 3	Wie 14	Wie 12

Anhangstabelle XIIc.
Untersuchung des Wassers von Versuch 1 beim Versuchsabschluß.

Versuchsreihe No.	Einzelversuch No.	I. Untersuchung am 15. Nov. 1907. Verbrauch an Titerlauge in $^1/_{100}$ ccm (1 ccm = 3,586 mg Stickstoff) für 500 ccm Wasser: a	b	c	Mittel (x)	Mittlerer Fehler d. arithmetischen Mittels (m_x)	In 500 ccm Wasser Stickstoff mg	In 2000 ccm Wasser Stickstoff mg	II. Untersuchung v. 6. bis 11. Dez. 1907. Verbrauch an Titerlauge in $^1/_{100}$ ccm (1 ccm = 3,586 mg Stickstoff) für 500 ccm Wasser: a	b	c	Mittel (x)	Mittlerer Fehler d. arithmetischen Mittels (m_x)	In 500 ccm Wasser Stickstoff mg	In 2000 ccm Wasser Stickstoff mg
I	1	20	10	10	13,3	± 3,3	0,476 ± 0,118	1,90	—	—	—	—	—	—	—
	2	20	30	30	26,7	± 3,3	0,957 ± 0,118	3,83	20	20	20	20	± 0	0,717 ± 0	2,87
II	3	30	50	30	36,7	± 6,7	1,316 ± 0,240	5,26	—	—	—	—	—	—	—
	4	40	60	40	46,7	± 6,7	1,675 ± 0,240	6,70	0	0	10	3,3	± 3,3	0,118 ± 0,118	0,47
III	5	20	40	40	33,3	± 6,7	1,194 ± 0,240	4,77	—	—	—	—	—	—	—
	6	40	50	40	43,3	± 3,3	1,553 ± 0,118	6,21	10	10	20	13,3	± 3,3	0,476 ± 0,118	1,90
IV	7	0	30	30	20,0	± 10,0	0,734 ± 0,359	2,94	—	—	—	—	—	—	—
	8	50	50	50	50,0	± 0	1,793 ± 0	7,17	10	10	10	10	± 0	0,359 ± 0	1,44
V	9	50	50	50	50,0	± 0	1,793 ± 0	7,17	—	—	—	—	—	—	—
	10	30	30	40	33,3	± 3,3	1,194 ± 0,118	4,77	20	20	20	20	± 0	0,717 ± 0	2,87
VI	11	60	50	50	53,3	± 3,3	1,912 ± 0,118	7,65	—	—	-	—	—	—	—
	12	0	0	0	0	± 0	0		10	0	0	3,3	± 3,3	0,118 ± 0,118	0,47
VII	13	30	40	30	33,3	± 3,3	1,194 ± 0,118	4,77	—	—	—	—	—	—	—
	14	0	0	0	0	± 0	0		20	20	30	23,3	± 3,3	0,836 ± 0,118	3,34
VIII	15	70	70	70	70	± 0	2,510 ± 0	10,04	—	—	—	—	—	—	—
	16	60	60	60	60	± 0	2,152 ± 0	8,61	30	30	40	33,3	± 3,3	1,194 ± 0,118	4,78
IX	17	80	80	80	80	± 0	2,869 ± 0	11,48	—	—	—	—	—	—	—
	18	80	80	90	83,3	± 3,3	2,987 ± 0,118	11,96	30	30	40	33,3	± 3,3	1,194 ± 0,118	4,78
X	19	40	50	40	43,3	± 3,3	1,553 ± 0,118	6,21	—	—	—	—	—	—	—
	20	40	30	40	36,7	± 3,3	1,316 ± 0,118	5,26	10	0	10	6,7	± 3,3	0,240 ± 0,118	0,96
XI	21	40	40	40	40	± 0	1,435 ± 0	5,74	—	—	—	—	—	—	—
	22	30	30	30	30	± 0	1,076 ± 0	4,30	0	0	10	3,3	± 3,3	0,118 ± 0,118	0,47
XII	23	50	50	50	50	± 0	1,793 ± 0	7,17	—	—	—	—	—	—	—
	24	50	50	40	46,7	± 3,3	1,675 ± 0,118	6,70	0	0	0	0	± 0		
XIII	25	30	30	30	30,0	± 0	1,076 ± 0	4,30	—	—	—	—	—	—	—
	26	30	30	30	30,0	± 0	1,076 ± 0	4,30	20	30	30	26,7	± 3,3	0,957 ± 0,118	3,83
XIV	27	0	0	0	0	± 0	0		30	20	20	23,3	± 3,3	0,836 ± 0,118	3,34
XV	28	0	0	0	0	± 0	0		—	—	—	—	—	—	—
	29	0	0	0	0	± 0	0		0	0	10	3,3	± 3,3	0,118 ± 0,118	0,47

Mittlerer Fehler für 500 ccm Wasser = ± 0,123 mg Stickstoff bei der I. Untersuchung
Mittlerer Fehler für 500 ccm Wasser = ± 0,101 mg Stickstoff bei der II. Untersuchung

Anhangstabelle XIIIa. Untersuchung der zum Versuch 2 benutzten Materialien.

Untersuchte Substanz	Angewandte Menge lufttrocken g	Verbrauch an Titerlauge in $^1/_{100}$ ccm (1 ccm = 3,586 mg N) für 20 g lufttrockenen Boden a	b	c	d	e	Mittel (x)	Mittlerer Fehler d. arithmet. Mittels (mx)	Entsprechend Stickstoff mg	Trockensubstanz Proz.	In der Trockensubstanz Stickstoff Proz.
1. Boden	20	80 90	80 80	80 90	80 90	80 90	84	± 1,6	3,01 ± 0,06	97,58	0,0154
2. Kot	10	1380 1150	1150 1140	1150 1120	1140 1150	1150 1150	1143	± 3,4	40,99 ± 0,12	36,28	1,130

3. Mannit- und Saccharoselösung waren stickstofffrei.

Anhangstabelle XIIIb. 1. Untersuchung der Böden von Versuch 2 nach 25-tägiger Versuchsdauer.

Versuchsreihe No.	Einzelversuch No.	Verbrauch an Titerlauge in $^1/_{100}$ ccm (1 ccm = 3,586 mg N) für 20 g lufttrockenen Boden a	b	c	Mittel (x)	Mittlerer Fehler des arithmet. Mittels (mx)	In 20 g lufttrockenen Boden Stickstoff mg	Im lufttrockenen Boden Trockensubstanz Proz.	Im gesamten Schaleninhalt (1000 g Trockenboden) Stickstoff mg	Alkalität (+) oder Azidität (—) in CaO-Aequivalent für Trockenboden Proz.
XVI	1	90	90	90	90	± 0	3,23 ± 0,0	99,36	162,50	± 0,0
	2	90	90	90	90	± 0	3,23 ± 0,0	99,51	162,30	— 0,043
XVII	3	150	160	150	153	± 3,3	5,49 ± 0,12	99,39	276,15	+ 0,014
	4	140	140	150	143	± 3,3	5,13 ± 0,12	99,67	257,40	— 0,029
XVIII	5	210	190	200	200	± 7,1	7,17 ± 0,28	99,67	359,76	+ 0,043
	6	200	210	190	200	± 7,1	7,17 ± 0,28	99,67	359,76	+ 0,029
XIX	7	90	90	90	90	± 0	3,23 ± 0,0	99,66	162,07	— 0,043
	8	90	90	90	90	± 0	3,23 ± 0,0	99,66	162,07	— 0,029
XX	9	100	100	90	97	± 3,3	3,48 ± 0,12	99,47	174,97	+ 0,230
	10	90	90	90	90	± 0	3,23 ± 0,0	99,55	162,23	+ 0,244
XXI	11	220	220	220	220	± 0	7,89 ± 0,0	99,26	397,28	+ 0,230
	12	200	200	200	200	± 0	7,17 ± 0,0	99,74	359,40	+ 0,230
XXII	13	200	200	210	203	± 3,3	7,28 ± 0,12	99,57	365,65	+ 0,244
	14	190	190	190	190	± 0	6,81 ± 0,0	99,69	341,52	+ 0,216
XXIII	15	180	180	180	180	± 0	6,45 ± 0,0	99,69	323,47	+ 0,230
	16	160	160	160	160	± 0	5,74 ± 0,0	99,67	294,71	+ 0,244
XXIV	17	210	200	210	207	± 3,3	7,42 ± 0,12	99,46	373,05	+ 0,272
	18	200	210	200	203	± 3,3	7,28 ± 0,12	99,60	365,46	+ 0,258
XXV	19	130	120	130	127	± 3,3	4,55 ± 0,12	99,71	228,07	+ 0,258
	20	140	140	140	140	± 0	5,02 ± 0,0	99,70	251,75	+ 0,244
XXVI	21	110	100	100	103	± 3,3	3,69 ± 0,12	99,67	185,15	+ 0,200
	22	100	110	100	103	± 3,3	3,69 ± 0,12	99,63	185,24	+ 0,200

Mittlerer Fehler für 20 g lufttrock. Boden ± 0,11 mg Stickstoff

Anhangstabelle XIIIc. Zweite Untersuchung der Böden von Versuch 2 nach 50-tägiger Versuchsdauer.

Versuchs-Reihe No.	Einzelversuch No.	Verbrauch an Titerlauge in $^1/_{100}$ ccm (1 ccm = 3,586 mg N) für 20 g lufttrockenen Boden a	b	c	Mittel	Mittl. Fehler des arithmetisch. Mittels	In 20 g lufttrockenen Boden Stickstoff mg	Trockensubstanz des Bodens Proz.	Im gesamten Schaleninhalt (1000 g Trockenbod.) Stickstoff mg
XVI	1	90	100	90	93	± 3,3	3,34 ± 0,12	99,70	167,25
	2	80	90	90	87	± 3,3	3,12 ± 0,12	99,60	156,62
XVII	3	160	160	150	157	± 3,3	5,63 ± 0,12	98,51	285,11
	4	150	140	140	143	± 3,3	5,13 ± 0,12	98,25	261,07
XVIII	5	180	190	180	183	± 3,3	6,56 ± 0,12	99,69	329,15
	6	190	190	210	197	± 3,3	7,07 ± 0,12	99,66	354,44
XIX	7	90	100	80	90	± 0	3,23 ± 0,0	99,70	161,98
	8	90	100	90	93	± 3,3	3,34 ± 0,12	99,21	168,08
XX	9	100	110	110	107	± 3,3	3,84 ± 0,12	99,64	192,55
	10	90	100	90	93	± 3,3	3,34 ± 0,12	99,37	167,81
XXI	11	210	210	210	210	± 0	7,53 ± 0,0	99,24	379,41
	12	200	200	200	200	± 0	7,17 ± 0,0	99,15	361,57
XXII	13	200	200	200	200	± 0	7,17 ± 0,0	99,62	359,87
	14	190	190	190	190	± 0	6,81 ± 0,0	99,69	341,56
XXIII	15	180	190	180	183	± 3,3	6,56 ± 0,12	98,29	333,70
	16	180	180	180	180	± 0	6,45 ± 0,0	98,01	329,05
XXIV	17	200	200	200	200	± 0	7,17 ± 0,0	97,96	365,97
	18	200	210	200	203	± 3,3	7,28 ± 0,12	97,41	375,41
XXV	19	120	120	120	120	± 0	4,30 ± 0,0	98,34	218,80
	20	110	120	120	117	± 3,3	4,20 ± 0,12	98,45	213,09
XXVI	21	110	110	110	110	± 0	3,95 ± 0,0	97,19	202,94
	22	100	100	100	100	± 0	3,59 ± 0,0	96,85	185,13

Mittlerer mittlerer Fehler für 20 g lufttrockenen Boden ± 0,09 mg Stickstoff

Anhangstabelle XIIId. Nachversuch zu Versuch 2 mit den Reihen XVIII und XXII.

Versuchsreihe No.	Verbrauch an Titerlauge in $^1/_{100}$ ccm (1 ccm = 3,365 mg N) für 20 g lufttrocken. Boden a	b	c	Mittel	Mittlerer Fehler des arithmetischen Mittels	Stickstoff in 20 g Boden mg	Im lufttrock. Boden Trockenboden %	Stickstoff in 1 kg Trockenboden bei Beginn des Nachversuches	am Schluß des Nachversuches	Stickstoffgewinn für 1 kg Trockenboden mg	Alkalität (+) oder Azidität (—) in CaO-Aequivalent für Trockenboden %
XVIIIa	220	220	220	220	± 0	7,40 ± 0	99,6	341,8 ± 4,5	371,5 ± 3,0	+ 29,8 ± 5,4	+ 0,042
XXIIa	200	200	200	200	± 0	6,73 ± 0	99,3	350,8 ± 4,5	339,0 ± 3,0	— 11,8 ± 5,4	+ 0,170
XVIIIb	360	350	350	353	± 5,8	11,88 ± 0,11	99,0	341,8 ± 4,5	600 ± 3,0	+ 258,2 ± 5,4	+ 0,034
XXIIb	380	360	350	363	± 15,3	12,21 ± 0,30	98,1	350,8 ± 4,5	622,2 ± 3,0	+ 271,4 ± 5,4	+ 0,144
Mittlerer Fehler in mg N ± 0,06											

Anhangstabelle XIVa. Untersuchung sämtlicher zum Versuch 3 benutzten Materialien.

Untersuchung beim Versuchsabschluß (19. Febr. und 27. März)

Versuchsreihe No.	Einzelversuch No.	Verbrauch an Titerlauge in 1/100 ccm (1 ccm = 3,586 mg N) für 20 g lufttrockenen Boden: a	b	c	Mittel	Mittl. Fehler des arithmet. Mittels	In 20 g lufttrockenem Boden Stickstoff mg	Im lufttrockenen Boden Trockensubstanz Proz.	Im gesamten Schaleninhalt (400 g Trockenboden) Stickstoff mg
		a) Untersuchung vom 19. Februar.							
XXVII	52	580	570	580	577	± 3,3	20,74 ± 0,12	98,73	420,1
	53	570	580	580	577	± 3,3	20,74 ± 0,12	99,05	418,7
XXVIII	54	580	570	580	577	± 3,3	20,74 ± 0,12	98,90	419,4
	55	570	580	580	577	± 3,3	20,74 ± 0,12	98,57	420,8
XXIX	56	580	580	580	580	± 0	20,80 ± 0	98,87	420,7
	57	580	580	580	580	± 0	20,80 ± 0	98,04	424,3
XXX	58	630	630	630	630	± 0	22,59 ± 0	98,59	458,3
	59	630	630	630	630	± 0	22,59 ± 0	98,39	459,2
XXXI	60	680	670	680	677	± 3,3	24,28 ± 0,12	98,50	492,9
	61	680	670	670	673	± 3,3	24,13 ± 0,12	98,80	488,6
	Mittlerer Fehler für 20 g lufttrockenen Boden = ± 0,09 mg Stickstoff								
		b) Untersuchung vom 27. März.							
							(1 ccm=3,365 mg N)		
XXVII	.	590	610	600	600	± 5,8	20,19 ± 0,20	99,0	407,8
XXVIII	.	600	580	580	587	± 6,6	19,75 ± 0,22	98,9	399,3
XXIX	.	630	610	610	617	± 6,6	20,76 ± 0,22	99,0	419,4
XXX	.	630	630	650	637	± 6,6	21,44 ± 0,22	99,0	433,1
XXXI	.	725	750	700	725	± 14,4	24,40 ± 0,48	99,0	492,9
	Mittlerer Fehler für 20 g lufttrockenen Boden = ± 0,29 mg Stickstoff								

Anhangstabelle XIVa. Untersuchung sämtlicher zum Versuch 3 benutzten Materialien. (Fortsetzung.)

	Verbrauch an Titerlauge in $^1/_{100}$ ccm (1 ccm = 3,586 mg N) für 20 g lufttrockenen Boden						Mittlerer Fehler des arithmetischen Mittels	In 20 g lufttrockenem Boden Stickstoff	Im lufttrockenen Boden Trockensubstanz	Im Schaleninhalt (400 g Trockenboden Stickstoff
	a	b	c	d	e	Mittel (x)		mg	Proz.	mg
Boden beim Versuchsbeginn	530	520	530	520	530	526	2,5	18,86 ± 0,09	91,49	412,4 ± 1,8

Anhangstabelle XVa. Untersuchung der Ausgangsböden zu Versuch 4.

Ausgangsböden	Verbrauch an Titerlauge in $^1/_{100}$ ccm (1 ccm = 3,586 mg N) für 20 g lufttrockenen Boden							In 20 g lufttrockenem Boden Stickstoff	Im lufttrockenen Boden Trockensubstanz	Im gesamten Schaleninhalt (400 g Trockenboden) Stickstoff	Alkalität (+) oder Aziditát (—) in CaO-Aquivalent für Trockenbod.	In 10-proz. Chlorammonlösung lösliches CaO	In 14 Tagen pro 100 ccm mit Boden geimpfter Beijerinckscher Mannitlösung gesammelter Stickstoff mg			
	a	b	c	d	e	Mittel	Mittl. Fehler des arithmet. Mittels	mg	Proz.	mg	Proz.	Proz.	a	b	c	Mittel
N III 1	520	520	540	530	520	526	± 3,3	18,86 ± 0,12	91,57	412,00	0,121	0,202	7,17	7,53	8,25	7,65
N III 2	410	410	410	410	400	408	± 2,0	14,63 ± 0,07	88,48	330,65	0,051	0,160	15,45	15,78	17,21	16,14
N III 3	360	380	370	380	380	374	± 3,3	13,41 ± 0,12	88,58	302,82	0,753	0,398	17,57	18,65	17,57	17,93
N III 4	400	400	390	410	410	402	± 3,7	14,42 ± 0,14	88,67	325,16	0,141	0,173	17,57	18,29	17,93	17,93
N III 7	360	360	370	350	360	360	± 1,0	12,91 ± 0,04	88,01	293,38	0,855	0,407	22,59	22,59	22,59	22,59

Anhangstabelle XVb. Untersuchung der zum Versuch 4 benutzten Böden nach 34- und 69-tägiger Versuchsdauer.

Versuchsreihe No.	Boden	Sonderbehandlung	Einzelversuch No.	Verbrauch an Titerlauge in 1/100 ccm (1 ccm = 3,586 mg N) für 20 g lufttrockenen Boden: a	b	c	Mittel (x)	Mittl. Fehler d. arithmetisch. Mittels (mx)	In 20 g lufttrockenem Boden Stickstoff mg	Im lufttrock. Boden Trockensubstanz %	Im gesamten Schaleninhalt (400 g Trockenboden) Stickstoff mg
		Untersuchung vom 21. Februar nach 34 Tagen									
XXXII	N III 1	0,1 Proz. Sublimat	62	570	580	570	573	± 3,3	20,55 ± 0,12	99,05	414,41
			63	580	570	570	573	± 3,3	20,55 ± 0,12	98,88	415,61
XXXIII	N III 1	Ohne Zusatz	64	590	590	590	590	± 0	21,16 ± 0,0	99,04	427,26
			65	580	580	580	580	± 0	20,80 ± 0,0	97,33	427,40
XXXIV	N III 1		66	600	610	610	607	± 3,3	21,77 ± 0,12	98,70	441,08
		1 % Mannit + 1 % Dextrose	67	600	600	600	600	± 0	21,52 ± 0,0	98,42	437,0
XXXV	N III 2	0,1 Proz. Sublimat	68	460	460	470	463	± 3,3	16,[illegible]0 ± 0,12	99,09	335,12
			69	460	460	470	463	± 3,3	16,60 ± 0,12	99,05	335,26
XXXVI	N III 2	Ohne Zusatz	70	460	470	470	467	± 3,3	16,75 ± 0.12	98,49	340,08
			71	470	470	460	467	± 3,3	16,75 ± 0,12	99.05	338,16
XXXVII	N III 2		72	500	500	490	497	± 3,3	17,82 ± 0,12	97,07	367,22
		1 % Mannit + 1 % Dextrose	73	470	470	470	470	± 0	16,85 ± 0,0	94,41	357,05
XXXVIII	N III 3	0,1 Proz. Sublimat	74	420	420	420	420	± 0	15,06 ± 0,0	99,04	304,15
			75	430	430	430	430	± 0	15,42 ± 0,0	99,04	311,39
XXXIX	N III 3	Ohne Zusatz	76	430	420	420	423	± 3,3	15,16 ± 0,12	98,43	308,22
			77	430	430	430	430	± 0	15,42 ± 0,0	98,81	312,12
XL	N III 3		78	510	510	510	510	± 0	18,29 ± 0,0	98,49	370,26
		1 % Mannit + 1 % Dextrose	79	510	500	500	503	± 3,3	18,04 ± 0,12	97,98	368,20
XLI	N III 4	0,1 Proz. Sublimat	80	460	460	460	460	± 0	16.50 ± 0,0	99,05	333,09
			81	460	470	470	467	± 3,3	16,75 ± 0,12	98,97	338,43
XLII	N III 4	Ohne Zusatz	82	470	470	460	467	± 3,3	16,75 ± 0,12	99,08	338.05
			83	470	460	470	467	± 3,3	16.75 ± 0,12	98,99	338,36
XLIII	N III 4		84	540	540	530	537	± 3,3	19,26 ± 0,12	96,83	397,75
		1 % Mannit + 1 % Dextrose	85	540	530	530	533	± 3,3	19,11 ± 0,12	97,41	392,45
XLIV	N III 7	0,1 Proz. Sublimat	86	420	420	420	420	± 0	15,06 ± 0,0	98,91	304,55
			87	410	410	420	413	± 3,3	14,81 ± 0,12	98,84	299,68
XLV	N III 7	Ohne Zusatz	88	440	440	430	437	± 3.3	15,67 ± 0,12	99,00	316,59
			89	430	420	420	423	± 3,3	15.16 ± 0,12	98,15	309,10
XLVI	N III 7		90	520	530	530	527	± 3,3	18,90 ± 0,12	98,77	382,68
		1 % Mannit + 1 % Dextrose	91	520	520	510	517	± 3,3	18,54 ± 0,12	98,60	376,06
		Mittlerer Fehler für 20 g lufttrockenen Boden = ± 0,098 mg Stickstoff									
		Untersuchung vom 27. März nach 69 Tagen (1 ccm Lauge = 3,365 mg N)									
XXXII	N III 1	0,1 Proz. Sublimat	62—63	610	590	610	603	± 6.6	20,29 ± 0.22	99,0	409,9
XXXIII	N III 1	Ohne Zusatz	64—65	600	590	590	593	± 3.3	19,95 ± 0,11	99,0	403,0
XXXIV	N III 1	1 % Mannit + 1 % Dextrose	66—67	610	620	520	617	± 3,3	20.76 ± 0,11	99,0	436,8
XXXV	N III 2	0,1 Proz. Sublimst	68—69	480	480	480	480	± 0	16.15 ± 0,0	99,0	326,2
XXXVI	N III 2	Ohne Zusatz	70—71	500	490	510	500	± 5 8	16.83 ± 0,20	99.0	340,0
XXXVII	N III 2	1 % Mannit + 1 % Dextrose	72—73	540	530	540	537	± 3,3	18,07 ± 0,11	98,9	365,4
XXXVIII	N III 3	0,1 Proz. Sublimat	74—75	450	450	460	453	± 3,3	15.24 ± 0,11	98,9	307,9
XXXIX	N III 3	Ohne Zusatz	76—77	470	480	480	477	± 3,3	16,05 ± 0,11	98,9	324,2
XL	N III 3	1 % Mannit + 1 % Dextrose	78—79	550	550	540	547	± 3,3	18,41 ± 0,11	98,9	372,3
XLI	N III 4	0,1 Proz. Sublimat	80—81	470	470	480	473	± 3,3	15,92 ± 0,11	98,9	321,9
XLII	N III 4	Ohne Zusatz	82—83	470	470	470	470	± 0	15,82 ± 0,0	98,9	319,9
XLIII	N III 4	1 % Mannit + 1 % Dextrose	84—85	580	600	580	587	± 6,6	19,75 ± 0,22	98,9	399,4
XLIV	N III 5	0,1 Proz. Sublimat	86—87	450	440	450	447	± 3,3	15,04 ± 0,11	98,9	304,1
XLV	N III 5	Ohne Zusatz	88—89	440	450	460	450	± 5,8	15,14 ± 0,20	99,0	306,1
XLVI	N III 5	1 % Mannit + 1 % Dextrose	90—91	550	550	540	547	± 3,3	18,41 ± 0,11	99,0	372,3
		Mittlerer Fehler für 20 g lufttrockenen Boden = ± 0,15 mg Stickstoff									

Anhangstabelle XVIa. Zu Versuch 5 benutzte Ausgangsmaterialien.

	Verbrauch an Titerlauge in $^{1}/_{100}$ ccm (1 ccm = 3,586 mg N) für 20 g Boden bezw. 2 g lufttrockener Rapsblätter						Mittel	Mittlerer Fehler des arithmetischen Mittels	In der untersuchten Substanz Stickstoff	In d. lufttrockenen Substanz Trockensubstanz	In der Trockensubstanz Stickstoff
	1	2	3	4	5	6			mg	Proz.	Proz.
1. Rheintalsand	100	100	90	100	100	100	98,3	± 1,7	3,5 ± 0,06	95,4	0,0183
2. Rapsblätter	3180	3180	3180	3170	.	.	3178	± 2,5	114,0 ± 0,09	95,4	5,975
3. Impfboden	360	360	370	350	360	.	360	± 1,0	12,9 ± 0,04	88,01	0,0733

4. $CaCO_3$ und Mannit waren stickstofffrei

Versuchsreihe No.	Einzelversuch No.	Zugeführte Stoffe in g Trockensubstanz pro Schale: Tannenbuschboden	Impfboden	$CaCO_3$	Mannit	Rapsblätter	Sa. exkl. Mannit u. Rapsblätter	Zugeführter Stickstoff in mg pro Schale: Tannenbuschboden	Impfboden	Rapsblätter	Zusammen	Stickstoff des Schaleninhalts (trocken) Proz.
XLVII	92, 93	500	4,5	.	10	.	504,5	91,5 ± 1,6	3 3	.	94,8 ± 1,6	0,0188
XLVIII	94, 95	500	4,5	0,23	10	.	504,7	91,5 ± 1,6	3,3	.	94,8 ± 1,6	0,0188
XLIX	96, 97	495,1	4,5	4,68	10	.	504,3	90,6 ± 1,6	3,3	.	93,9 ± 1,6	0,0186
L	98, 99	490,8	4,5	9,13	10	.	504,4	89,8 ± 1.5	3,3	.	93,1 ± 1,5	0,0185
LI	100, 101	455,1	4,5	44,7	10	.	504,3	83,3 ± 1,4	3,3	.	86,6 ± 1,4	0,0172
LII	102, 103	277,6	4,5	222,1	10	.	504.8	52,8 ± 0,9	3,3	.	56,1 ± 0,9	0,0111
LIII	104, 105	54.8	4,5	445,2	10	.	504,5	10 0 ± 0,2	3,3	.	33,3 ± 0,2	0,0026
LIV	106, 107	495,1	4,5	4,68	.	10,5	504,3	90,6 ± 1,6	3,3	627,4 ± 0,5	721,3 ± 0,7	0,1430

Anhangstabelle XVIb. Untersuchung der Böden des Versuches 5 nach 27-tägiger Versuchsdauer am 16. März 1908.

Versuchsreihe	Einzelversuch No.	Verbrauch an Titerlauge in $^{1}/_{100}$ ccm (1 ccm = 3,365 mg N) für 20 g lufttrockenen Schaleninhalt 1)						Mittel	Mittlerer Fehler des arithmetischen Mittels	In 20 g lufttrockenem Schaleninhalt Stickstoff	Im Schaleninhalt Trockensubstanz	Im gesamten Schaleninhalt (rund 500 g Trockensubstanz) Stickstoff	Stickstoff in Prozent des trockenen Schaleninhalts
		1	2	3	4	5	6	(x)	(mx)	mg	Proz.	mg	
XLVII	92 93	100	110	100	110	100	110	105	± 2,24	3,53 ± 0,07	99,7	89,3	92 = 0,0174 93 = 0,0180
XLVIII	94 95	110	110	110	110	130	130	117	± 4,22	3,94 ± 0,14	99,6	99,8	94 = 0,0186 95 = 0,0206
XLIX	96 97	180	180	180	190	190	190	185	± 2,24	6,22 ± 0,07	99,7	157,3	96 = 0,0304 97 = 0,0320
L	98 99	190	190	190	190	180	180	187	± 2,11	6,29 ± 0,07	99,7	159,2	98 = 0,0320 99 = 0,0309
LI	100 101	190	190	190	180	180	190	187	± 2,11	6,29 ± 0,07	99,7	159,2	100 = 0,0320 101 = 0,0309
LII	102 103	140	140	130	130	130	120	132	± 3,08	4,44 ± 0,10	99,8	112,3	102 = 0,0231 103 = 0,0214
LIII	104 105	100	90	100	100	100	90	97	± 2,11	3,26 ± 0,07	99,8	82,48	104 = 0,0163 105 = 0,0163
LIV	106 107	480	490	490	480	490	480	485	± 2,24	16,32 ± 0,07	99,6	413,2	106 = 0,0822 107 = 0,0816
	Mittl. Fehler für 20 g lufttrock. Schaleninhalt = ± 0,086 mg Stickstoff												

1) Die Bestimmungen 1, 2, 3 gelten stets für den 1., die Bestimmungen 4, 5, 6 für den 2. Einzelversuch der betreffenden Reihe.

Anhangstabelle XVIc. Untersuchung der Böden des Versuchs 5 nach 65-tägiger Versuchsdauer am 23. April 1908.

Versuchsreihe	Einzelversuch No.	Verbrauch an Titerlauge in $^1/_{100}$ ccm (1 ccm = 3,364 mg N) für 20 g lufttrockenen Schaleninhalt [1]						Mittel	Mittlerer Fehler des arithmetischen Mittels	In 20 g lufttrockenem Schaleninhalt Stickstoff	Im lufttrockenen Schaleninhalt Trockensubstanz	Im gesamten Schaleninhalt (rund 500 g Trockensubstanz) Stickstoff	Stickstoff in Prozent des trockenen Schaleninhalts
		1	2	3	4	5	6			mg	Proz.	mg	
XLVII	92 93	170	170	170	170	170	180	172	± 1,67	5,79 ± 0,05	99,5	146,81 ± 1,27	92 = 0,0287 93 = 0,0292
XLLIII	94 95	260	240	240	250	240	260	248	± 4,01	8,34 ± 0,135	99,5	211,47 ± 3,42	94 = 0,0418 95 = 0,0423
XLIX	96 97	270	270	260	260	260	270	265	± 2,24	8,91 ± 0,070	99,5	225,78 ± 1,77	96 = 0,0451 97 = 0,0445
L	98 99	260	270	260	260	270	260	263	± 2,11	8,85 ± 0,070	99,5	224,3 ± 1,77	98 = 0,0445 99 = 0,0445
LI	100 101	260	260	270	260	260	260	262	± 1,67	8,81 ± 0,05	99,6	223,0 ± 1,27	100 = 0,0445 101 = 0,0440
LII	102 103	280	270	260	270	260	270	268	± 3,08	9,02 ± 0,10	99,6	228,67 ± 2,54	102 = 0,0456 103 = 0,0451
LIII	104 105	220	220	210	210	210	210	217	± 2,67	7,30 ± 0,09	99,7	184,65 ± 2,27	104 = 0,0366 105 = 0,0354
LIV	106 107	420	400	400	410	400	400	405	± 3,41	13,63 ± 0,115	99,6	344,94 ± 2,91	106 = 0,0687 107 = 0,0680
		Mittlerer mittlerer Fehler für 20 g lufttrockenen Schaleninhalt = ± 0,090 mg Stickstoff											

1) Die Bestimmungen 1, 2, 3 gelten stets für den 1., die Bestimmungen 4, 5, 6 für den 2. Einzelversuch jeder Reihe.

Anhangstabelle XVIIa. Untersuchung der zu Versuch 6 benutzten Materialien beim Versuchsbeginn.

Art des untersuchten Stoffs	Stickstoffbestimmung: Zur Bestimmung angewandte Menge Tr.-S.	Verbrauch an Titerlauge in $^1/_{100}$ ccm (1 ccm = 3,23 mg N)							Mittlerer Fehler des arithmetischen Mittels	In der angewandten Menge Stickstoff im Mittel	Stickstoff in Prozent der Trockensubstanz	Alkalität (+) bezw. Azidität (—) in CaO-Aequivalent für Trockenboden	Stickstoffsammlung in Beijerinckscher Mannitlösung in mg für 1 g Mannit		
	g	a	b	c	d	e	f	Arithmetisches Mittel		mg		Proz.	a	b	Mittel
1. Moorboden I	0,92	510	520	510	520	520	510	515	± 2,23	16,63 ± 0,07	1,808	+ 0,138	3,07[1]	3,49[1]	3,28
2. Moorboden II	1,06	710	710	720	720	720	710	715	± 2,23	23,09 ± 0,07	2,179	— 0,083	4,69[2]	5,01[2]	4,85
3. Quarzsand	20,00	40	40	30	40	30	30	35	± 2,23	1,13 ± 0,07	0,0057	+ 0,013	0,64	1,13	0,89
4. Rheintalsand	19,56	100	110	90	100	110	110	103	± 3,33	3,33 ± 0,11	0,0170	— 0,013	1,62	1,29	1,46
5. Kaolin	9,48	30	30	30	.	.	.	30	± 0,0	0,97 ± 0,0	0,0102	± 0,0	0,81	0,81	0,81
6. Tonboden	19,47	210	230	210	220	230	220	220	± 3,65	7,11 ± 0,12	0,0365	— 0,019	1,13	1,31	1,22
7. Versuchsfeldboden von N III 2	19,61	480	480	470	.	.	.	476	± 3,36	15,37 ± 0,11	0,0784	+ 0,093	3,07	3,07	3,07
8. Impferde von N III 7	19,24	440	430	440	440	450	440	440	± 2,58	14,21 ± 0,08	0,0740	.	7,27	7,11	7,19
									± 2,68						

Mannit und $CaCO_3$ erwiesen sich als stickstofffrei. $CaCO_3$ = 55,24 Proz. CaO.

1) Davon 1,8 mg im Impfmaterial.
2) Davon 3,5 mg im Impfmaterial.

Tabelle XVIIb. Untersuchung beim Versuchsabschluß.

Boden	Versuchsreihe No.	No. der Schale	Zur Stickstoffbestimmung angewandt lufttrockener Boden g	Im lufttrockenen Boden Trockensubstanz g	Angewandt an Trockensubstanz g	Verbrauch an Titerlauge in $^1/_{100}$ ccm (1 ccm = 3,23 mg Stickstoff) a	b	c	Mittel (x)	Mittlerer Fehler des arithmetischen Mittels (m_x)	Stickstoff in der angewandten Menge Boden mg	Stickstoff in der Trockensubstanz Proz.	Alkalität (+) oder Azidität (—) in CaO-Aequivalent für Trockenboden Proz.	Verbrauch an Titerlauge in $^1/_{100}$ ccm für 100 ccm Beijerinckscher Mannitlösung a	b	Mittel	Stickstoff in 100 ccm Beijerinckscher Mannitlösung mg
Moorboden I	LV	108	2	44,51	0,89	440	460	440	447	± 6,67	14,44	1,621	± 0	150	160	155	4,20 [1])
		109	2	46,19	0,92	490	480	490	487	± 3,34	15,73	1,710	+ 0,0978				
Moorboden II	LVI	110	2	52,18	1,04	660	640	650	650	± 5,77	20,99	2,020	— 0,0886	210	230	220	4,20 [2])
		111	2	52,04	1,04	630	640	630	633	± 3,34	20,44	1,963	± 0				
Quarzsand	LVII	112	20	99,81	19,96	90	90	80	83	± 3,34	2,68	0,0134	± 0	330	310	320	10,33
		113	20	99,72	19,94	80	90	90	87	± 3,34	2,81	0,0141	+ 0,0167				
Rheintalsand	LVIII	114	20	99,60	19,92	160	170	160	163	± 3,34	5,26	0,0264	± 0	470	450	460	14,85
		115	20	99,56	19,91	170	170	160	167	± 3,34	5,39	0,0271	± 0				
Kaolin	LIX	116	10	93,91	9,39	90	100	100	97	± 3,34	3,13	0,0333	+ 0,0137	410	400	405	13,07
		117	10	93,90	9,39	100	100	90	97	± 3,34	3,13	0,0333	± 0				
Tonboden	LX	118	20	95,45	19,09	210	190	200	200	± 5,77	6,46	0,0338	— 0,0378	540	530	535	17,27
		119	20	96,65	19,33	220	190	210	207	± 8,03	6,69	0,0345	— 0,0133				
Versuchsfeldboden	LXI	120	20	98,49	19,69	550 540	560 530	550 530	543	± 4,94	17,54	0,089	+ 0,183	630	610	620	20,02
		121	20	98,65	19,73	520 520	550 520	540 520	528	± 5,42	17,05	0,087	+ 0,148				
Moorboden I	LXII	122	2	46,96	0,94	450	460	470	460	± 5,77	14,86	1,581	+ 0,480	720	700	710	21,12 [1])
		123	2	43,26	0,86	430	430	410	423	± 6,67	13,66	1,578	+ 0,6000				
Moorboden II	LXIII	124	2	47,93	0,96	580	560	570	570	± 5,77	18,41	1,919	+ 0,538	510	530	520	13,88
		125	2	47,98	0,96	570	590	580	580	± 5,77	18,73	1,951	+ 0,471				
Quarzsand	LXIV	126	20	99,33	19,87	90	80	80	83	± 3,34	2,68	0,0135	+ 0,451	440	420	430	13,88
		127	20	99,31	19,86	80	90	70	80	± 5,77	2,58	0,0130	+ 0,429				
Rheintalsand	LXV	128	20	99,68	19,93	170	170	170	170	± 0	5,49	0,0275	+ 0,535	580	560	570	18,40
		129	20	99,58	19,91	150	160	150	153	± 3,3	4,94	0,0248	+ 0,509				
Kaolin	LXVI	130	10	93,32	9,33	90	90	100	93	± 3,34	3,00	0,0322	+ 0,235	270	300	285	9,20
		131	10	91,73	9,17	90	80	90	87	± 3,34	2,81	0,0306	+ 0,239				
Tonboden	LXVII	132	20	96,68	19,34	310	320	290	307	± 8,82	9,91	0,0512	+ 0,454	490	460	475	15,33
		133	20	97,25	19,45	310	290	300	300	± 5,77	9,69	0,0498	+ 0,477				
Versuchsfeldboden	LXVIII	134	20	98,64	19,73	560 550	570 540	560 550	555	± 4,28	17,93	0,091	+ 0,572	390	380	385	12,43
		135	20	98,18	19,64	570 560	560 560	560 560	562	± 1,67	18,15	0,092	+ 0,578				

1) Nach Abzug von 1,8 mg: Impfmittel. 2) Nach Abzug von 2,9 mg: Impfmittel.

Nachdruck verboten.

Nachweis des Hausschwammes (Merulius) auf kulturellem Wege.

Von Prof. Dr. C. **Wehmer.**

Die Diagnose auf Hausschwamm (Merulius) ist bekanntlich nicht immer leicht zu stellen, es kommen Fälle vor, die es zweifelhaft lassen, ob hier Merulius oder irgend ein anderer Holzschwamm vorliegt. Natürlich fehlen dann Fruchtkörper, Stränge, charakteristische Mycelhäute und dergl. völlig, man hat nur helle sterile Mycelien als spärlichen Beleg auf den kritischen Brettern, Balken etc., die dann mikroskopisch bearbeitet werden müssen. Hier befriedigen die Ermittelungen u. a. auf Zahl der Kerne und Schnallenzellen[1]) nicht immer, und ziehe ich, wo angängig, den kulturellen Nachweis vor. Reinkulturen des Merulius lacrymans unterscheiden sich bei einiger Uebung in der Beurteilung auf den ersten Blick z. B. von denen der Coniophora cerebella und des Polyporus vaporarius, Verwechselungen dieser drei Pilze, wie solche sonst gelegentlich vorkommen, sind unter Berücksichtigung der kulturellen Merkmale völlig ausgeschlossen.

Die Kulturen werden nach den üblichen mykologischen bezw. bakteriologischen Methoden hergestellt, Voraussetzung ist natürlich, daß der Pilz in dem kritischen Holzmaterial noch lebt; bei richtig ausgewählten Proben ist das bei Merulius gewöhnlich der Fall. Von dem im dampfgesättigten Raum herauswachsenden Mycel wird zunächst eine Zahl von Abimpfungen auf Nähragar (2 Proz.) gemacht, deren Reinheit zu konstatieren ist. Von einer einwandsfreien derartigen Kultur (mikroskopische Kontrolle) wird weitergeimpft, und zwar in Reagenzglaskulturen mit Würzegelatine (10 Proz.), -Agar (2 Proz.) und Kartoffeln (gekocht), sodann bei 20° wachsen gelassen. Das kulturelle Aussehen der drei Pilze ist auf allen drei Substraten merklich verschieden, insbesondere eignet sich auch der Kartoffelnährboden gut für diesen Zweck; auf Genaueres über Zusammensetzung der Substrate u. a. komme ich bei anderer Gelegenheit zurück.

Merulius[2]) zeichnet sich durch eine vielfach größere Wachstumsschnelligkeit unter den gewählten Bedingungen aus, die Kulturen sind durchweg schneeweiß (voluminöses, watteartiges Mycel), nach einigen Wochen zusammenfallend; Gelbfärbung fast nur bei Substrathyphen (Agar, Gelatine).

Coniophora: Mycel stets gelblich (creme- bis hell lehmfarben), nie schneeweiß, nicht watteartig, sondern locker anliegend. Pigmentbildung! (gelbbraun bis hellbraun).

---

1) Näheres über Unterscheidung nach diesen siehe bei Mez, Hausschwamm und holzzerstörende Pilze. Dresden 1908. p. 124, wo auch frühere Literatur.

2) Der für diese Versuche benutzte Merulius entstammte einem typisch hausschwammkranken Wohngebäude bei Hannover, wo er innerhalb eines Jahres radikale Zerstörungen angerichtet hatte; Isolierung aus einem 4 cm dicken Fichtenbrett.

Polyporus vaporarius: Kultur stets schneeweiß (wie Merulius), auch Substrathyphen auf Gelatine und Agar stets farblos! Wachstum weit träger, auch nach langer Zeit (Wochen, Monate), wenig ergiebig, selten über die ganze Oberfläche sich ausdehnend. Etwas besser in Erlenmeyer-Kolben auf Fließpapier, mit Zuckerlösung getränkt, fortkommend, hier auch kleine Fruchtkörper entstehend, stets alles schneeweiß (Coniophora bildet hier feine bräunliche Stränge!).

Die Farbe des Luftmycels unterscheidet also Coniophora sogleich von den beiden anderen[1]), Merulius sticht gegen Agaricus unter den gewählten Bedingungen durch sehr rasches Wachstum und starkes watteartiges Mycel ab, ebenso durch gelegentliche Goldgelbfärbung zumal der Deckenhyphen (Unterseite gelb).

Von ganz verschiedenem Aussehen sind besonders die Kulturen auf Kartoffel: Coniophora bedeckt die Stücke mit dichtem hell cremefarbenen Ueberzug, Merulius umwächst sie rasch mit schneeigem, watteartigem Geflecht, Polyporus wächst ausnehmend kümmerlich in kleinen, weißen, sehr langsam sich ausdehnenden Rasen, oder geht kaum an.

Gelatine wird von allen dreien nach einiger Zeit verflüssigt, am trägsten wieder von Polyporus, hier ohne jede Verfärbung ins Gelbliche, etwas schneller von den beiden anderen (Gelbfärbung!), aber selbst der besser wachsende Merulius erweicht dieselbe erst allmählich, ist also in den ersten 1—2 Wochen gewöhnlich noch ohne Wirkung; die verflüssigte Masse ist schließlich hell bis dunkler gelbbraun. Anscheinend treten die Enzyme erst aus toten Zellen aus.

Auf mancherlei sonstige feinere Unterschiede gehe ich hier nicht ein; so zeigt das Aussehen der Pilze auf größeren Gelatine- und Agarflächen (im Erlenmeyer-Kolben), wo durchweg wieder Merulius weit schneller sich entwickelt, ganz bestimmte Unterschiede im Aussehen des Mycels etc. Mir lag nur daran, hier auf die Leichtigkeit hinzuweisen, mit der speziell Merulius von diesen beiden anderen Schädlingen auf dem üblichen kulturellen Wege praktisch brauchbar unterschieden werden kann.

Sicherheit in der Unterscheidung ist für die Praxis (Schwammprozesse!) wichtig, es ist in mehrfacher Beziehung durchaus nicht gleichgültig, ob in einem konkreten Falle Merulius oder irgend ein beliebiger Holzschwamm vorliegt; in kritischen Fällen ist es also stets erste Aufgabe, die Art desselben festzustellen, also zu unterscheiden, und nicht — wie das tatsächlich selbst von Sachverständigen und gerichtlichen Gutachtern geübt ist — alle Holzschwämme und die von ihnen in Gebäuden angerichteten Schäden kurzerhand als „Hausschwamm" zu erklären, wobei selbst alte 30-jährige, dem nackten Erdboden aufliegende Scheunendielen eingeschlossen wurden.

Der Isolierung des verdächtigen Pilzes aus dem kranken Holze hat die Identifizierung zu folgen, nötigenfalls unter Vergleich mit

---

1) Auf die gelbe Färbung (schwefelgelb) weist schon Mez, l. c. p. 87 hin. Kulturen des Polyporus glaubt derselbe allerdings nicht mit Sicherheit makroskopisch von denen des Merulius unterscheiden zu können; Hinweise auf praktisch brauchbare kulturelle Unterschiede bezw. Vergleiche finde ich in der sonst an detaillierten Beschreibungen reichen Literatur nicht.

vorrätig gehaltenen Reinkulturen derartiger Schwämme, und zwar nach den angedeuteten kulturellen Merkmalen, schwerlich wird man immer abwarten können, ob es zur Sporenbildung kommt. Sammlungen solcher Pilzkulturen anzulegen wäre, beiläufig bemerkt, in erster Linie Aufgabe bakteriologischer (oder mykologischer) Laboratorien, und zwar Technischer Hochschulen[1]), die da ja aus naheliegenden Gründen zunächst in Frage kommen, auch in ganz anderem Maße als bisher sich für technische Mykologie oder allgemeiner für technische Botanik interessieren müssen.

Zur Methode der bakteriologischen Bodenuntersuchung.

[Mitteilung aus der agrikulturchemischen Versuchsstation Berlin, Institut für Versuchswesen und Bakteriologie an der Kgl. Landwirtsch. Hochschule.]
(Vorläufige Mitteilung.)

Von **Hugo Fischer.**

Das bekannte „Remysche Verfahren" der bakteriologischen Bodenuntersuchung (über dessen Wert und Bedeutung die Meinungen der Fachgenossen weit auseinandergehen) hat Löhnis sich bemüht weiter auszubauen. Eine wesentliche Vervollkommnung glaubt er dadurch eingeführt zu haben, daß er für die Nährlösungen nicht Wasser, sondern die spezifischen Extrakte der zu vergleichenden Böden verwendet (vergl. besonders: Ein Beitrag zur Methodik der bakteriologischen Bodenuntersuchung, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. XII. 1904. p. 262 ff., 448 ff.).

Dabei ist es jedoch von vornherein wahrscheinlich, daß Unterschiede in den zu verfolgenden Stickstoffumsetzungen auch dann zutage treten würden, wenn die Impfung durchweg mit dem gleichen Bakteriengemisch erfolgte: Denn zwei Reihen von Nährlösungen, die bei sonst gleicher Zusammensetzung mit zwei verschiedenen Bodenextrakten angesetzt sind, werden den eingebrachten Mikroorganismen selbstredend verschiedene Existenzbedingungen bieten, und, da Bakterien, namentlich im Konkurrenzkampf, gegen minimale Aenderungen im Nährsubstrat bekanntermaßen hochempfindlich sind, deren Entwickelung und chemisch-physiologische Tätigkeit mehr oder weniger beeinflussen — in welcher Richtung, bleibe zunächst dahingestellt.

Um die Frage nach der Wirkung der Bodenauszüge zu prüfen, wurde zunächst folgender Versuch angestellt:

Benutzt wurde ein ausgesucht leichter, nicht in Kultur befindlicher Sandboden (S) und ein lehmig-sandiger Ackerboden (L), der im Mai 1908, um die Unterschiede der beiden noch schärfer zu gestalten, eine

---

1) Die Technische Hochschule in Hannover ist meines Wissens bislang die einzige Hochschule, an der eine Sammlung von Schwammhölzern und Schwammkulturen nebst Einrichtung eines die Vorträge über Technische Mykologie bezw. Bakteriologie ergänzenden technisch-bakteriologischen Laboratoriums in die Wege geleitet ist.

reichliche Stallmistdüngung erhalten hatte. Von beiden wurden, nach Löhnisscher Vorschrift, 1 kg Boden : 1 l Wasser, im Autoklaven die entsprechenden Auszüge bereitet und filtriert. Sodann wurden je 2 g Blutmehl (von 12,10 Proz. Stickstoff) mit je 150 ccm eines der beiden Extrakte im Autoklaven sterilisiert, und darauf mit je 10 g der beiden Böden beimpft, so daß je der vierte Teil der Kolben Extrakt S oder L, bezw. Impfung S oder L, gleich und gleich oder übers Kreuz, erhielt. — Die Kolben standen im Thermostaten bei 25° C.

Nach 14 Tagen wurden 2 × 4 = 8 Kolben mit Magnesia usta abdestilliert, und, da das Ergebnis Interesse erweckte, am darauffolgenden Tage weitere 8 Kolben in derselben Weise.

Unter dem Vorbehalt, ausführlichere Zahlen später zu veröffentlichen, sei hier nur das durchschnittliche Endresultat mitgeteilt. Abzüglich der im Blutmehl + Bodenauszug, und der in je 10 g der eingeimpften Böden enthaltenen geringen Ammoniakmengen, fanden sich in den 4 Reihen als durch Bakterientätigkeit abgespaltener Ammoniakstickstoff, berechnet auf den im Blutmehl gegebenen Stickstoff:

Extr. S, Impfg. S : 36,4 Proz.	Impfg. S, Extr. S : 36,4 Proz.
„ S, „ L : 35,5 „	„ S, „ L : 43,6 „
„ L, „ S : 43,6 „	„ L, „ S : 35,5 „
„ L, „ L : 42,0 „	„ L, „ L : 42,0 „

In der doppelten Gegenüberstellung tritt klar zutage, daß der Unterschied nicht in den Impfungen, sondern in den Extrakten beruht; ferner, daß der höchst unfruchtbare S-Boden, wo er als Impfungsmaterial mit L im Vergleich steht, nicht geringere, sondern sogar etwas höhere „Fäulniskraft“ entwickelt hat als der weitaus bessere L-Boden! Letzteres stimmt mit den Feststellungen anderer Forscher (z. B. Maassen und Behn, in Mitteil. Kais. Biolog. Anstalt f. Land- u. Forstwirtschaft. 1907. Heft 4. p. 33), wonach die bakterielle Aktivität und die Ertragsfähigkeit zweier Böden keineswegs in geradem Verhältnis zueinander stehen. Ersteres geht aber schon aus Löhnis' eigenen Angaben hervor (a. a. O. p. 460—461), nach welchen Denitrifikation und Stickstoffsammlung in wässeriger Nährlösung keine oder minimale Unterschiede zeigten (!), sehr deutliche aber bei Verwendung der zweierlei Bodenextrakte.

Es ist also in den Löhnisschen Arbeiten weit weniger die Bakterienimpfung als das Bodenextrakt das ausschlaggebende Moment.

Wodurch die Bodenauszüge wirken, steht noch dahin; daß es ihr Gehalt an mineralischen Nährstoffen sei, wie Rahn (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XX. Heft 1—3. p. 58) vermutet, ist wenig wahrscheinlich. Entweder handelt es sich um größere oder geringere Mengen von „Hemmungsstoffen“, die aus den Böden in die Auszüge übergehen, die also kochfest sein müßten, oder von gewissen „Reizstoffen“, oder aber, und das ist wohl zunächst das wahrscheinlichste, ist es die (± saure oder alkalische) Reaktion der Böden bezw. Bodenextrakte, die in der größeren oder geringeren bakteriellen Aktivität zum Ausdruck kommt, und für welche vielleicht die Bakterien ein empfindlicherer Indikator sind, als alle in der Chemie gebräuchlichen Farbreaktionen. Diese Frage weiter zu prüfen, wird jetzt meine nächste Aufgabe sein.

Berlin, 8. Januar 1909.

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Abgeschlossen am 19. Februar 1909.

Nachdruck verboten.

Ueber einige zum „Rübengeschmack" der Butter beitragende Mycelpilze.

[Mitteilung des bakteriologischen Laboratoriums der Versuchsstation für Molkereiwesen in Kiel.]

Von Prof. Dr. **Weigmann** und Dr. **A. Wolff.**

Mit 6 Tafeln.

Bei den Untersuchungen über den Steckrübengeschmack der Butter, welche in einer Reihe von Jahren an unserem Institut ausgeführt worden sind (siehe Landw. Jahrbücher. Bd. XXXVII. 1908. Heft 2. p. 261—309 und Referat darüber diese Zeitschrift. Bd. XXII. p. 129) wurden einige Mycelpilze gefunden, die sowohl auf den künstlichen Nährböden, namentlich auf Molken-Pepton-Gelatine, wie auch in Milch einen knoblauchartigen, an Phosphorwasserstoff erinnernden Geruch und (in Milch) einen lauch- bis senfölartigen Geschmack hervorbringen. Einige von ihnen wurden im Kot von Kühen, welche mit Steckrüben gefüttert worden waren, in größerer Anzahl festgestellt, die anderen wurden in fehlerhafter Milch angetroffen.

Da bei ihrer Auffindung nicht Zeit und Gelegenheit gegeben war, die Pilze auf ihre systematische Zugehörigkeit zu prüfen, vielmehr das Augenmerk ganz auf ihre physiologische Eigentümlichkeit gerichtet war, unterblieb eine genauere botanische Untersuchung und Beschreibung. Diese ist erst jetzt nachgeholt worden und soll nachfolgend gegeben werden. Der eine dieser Pilze wurde schon bald als Penicillium brevicaule erkannt, ein anderer schien in mehreren Varietäten aufzutreten, fand sich ebenfalls im Kuhkot vor, wurde aber später — und wie der Referent sich nun erinnert, auch früher schon bei mannigfachen Gelegenheiten — in Milch und Butter angetroffen.

Penicillium brevicaule (Taf. I).

Dieser Mycelpilz wurde von uns, wie erwähnt, in größerer Zahl im Kot von Kühen konstatiert, die ziemlich stark mit Steckrüben gefüttert worden waren. Er fiel durch seine Eigentümlichkeit auf, in Molken-Pepton-Gelatine-Plattenkultur einen starken senföl- bis steckrübenartigen Geruch und in Milch den gleichen Geruch und Geschmack zu verursachen. Später trafen wir ihn nochmals auf und in Holz an, das im Lager eines Käsehändlers als Lagerbrett (Bord) gedient hatte. In diesem Lager hatte sich ein Käsefehler — Rotbraunwerden der Käse — eingeschlichen; der Pilz hatte zwar mit diesem Käsefehler nichts zu tun, aber seine Anwesenheit kann als ein Zeichen der Verwilderung der Pilzflora im Käselager angesehen werden.

Obwohl Beschreibungen des Pilzes sich schon anderwärts finden, unter anderem in Lafars Handbuch der technischen Mykologie, Bd. IV, hielten wir es doch für gut, die von uns aufgefundenen Formen ebenfalls

zu beschreiben und im Bild wiederzugeben, um auf diese Weise die vorhandene Literatur möglichst zu vervollständigen.

Auf Molken-Pepton-Gelatineplatten zeigt sich nach 48 Stunden ein strahlig verzweigtes Mycel, das nach 3 Tagen schimmelartigen Charakter erkennen läßt und nach 5 Tagen die Gelatine zu erweichen beginnt. Dabei wird das Mycel hautartig, erhält eine mehlig bestäubte Oberfläche und wird blasig aufgetrieben (Taf. I, Fig. 1). Der Geruch der Kultur ist anfangs knoblauchartig, dann schärfer, steckrübenartig, schließlich ammoniakalisch.

Bei mikroskopischer Betrachtung zeigen die Hyphenfäden der strahlig wachsenden jungen Kolonieen insofern eine Besonderheit, als sie mit stark lichtbrechenden Vakuolen von werschiedener Gestalt erfüllt sind, so daß sie namentlich an ihren Enden wie kurz septiert oder in Konidien zerfallen oder auch sporenhaltig erscheinen (Fig. 2 und Fig. 3a). Von diesem Mycel aus zweigen in kurzen Fäden die Konidienträger (Fruchtträger Stoll) nach außen in die Luft ab (Fig. 4 und Fig. 3a und 3b). Diese enden nicht immer in normaler Weise mit einem Büschel von Sterigmen und Konidien, sondern vielfach direkt mit einer einzigen Konidie oder einer Reihe von solchen (Fig. 5). Die Konidien sind teils kahl, teils stachelig (Fig. 6 und Fig. 3c), und zwar finden sich auf der gleichen Kolonie beide Arten stellenweise nebeneinander verteilt, so daß an manchen Stellen nur glatte, an anderen nur stachelige Konidien auftreten. Es hatte den Anschein, als ob da, wo die Konidien einzeln blieben und das Mycel kräftiger entwickelt war, sich die stachelige Form entwickelt hätte, und da, wo die Konidien in Ketten auftraten, glatt geblieben wären, doch will es uns fraglich erscheinen, ob die Angaben C. Wehmers in Lafars Handbuch der Mykologie. Bd. IV. p. 230, daß die reifen Konidien warzig seien, immer zutreffend ist, da wir auch an den Enden längerer Ketten solche mit kahler Epidermis vorfanden, während, wie schon erwähnt, selbst vereinzelte Konidien warzig sein können. Die Form ist teils kugelig — die stacheligen Konidien sind immer kugelig — teils ei- oder birnförmig, meist sind sie mit einem ganz kurzen Stielansatz versehen.

Die Hyphen haben eine Breite von 3—11 μ, die Konidien bei kugeliger Form meist einen Durchmesser von 5—6 μ und variieren bei der Birnform von $5 \times 7{,}5$ μ (5 μ an der weitesten Stelle der Breite und 7,5 μ in der Länge) bis 10×14 μ.

Im Molken-Gelatinestich zeigt sich nach 3 Tagen ein fast bis in die Tiefe reichendes, aber nicht sehr kräftiges Wachstum. Der Stichkanal ist mit äußerst feinen seitlichen Härchen dicht besetzt, die oben weiter in die Gelatine reichen als unten. Das Wachstum an der Oberfläche ist bedeutend kräftiger.

Die Molken-Gelatine-Strichkultur wächst sich binnen 48 Stunden schon zu einem mäßig breiten, dünnen mattweißen Belag aus feinen seitlich vom Strich abstehenden Härchen aus und erhält am 5. Tage ein filziges, schneeweißes, bestäubtes Aussehen, wobei die seitlichen Ausläufer die Glaswand erreicht haben.

Die entsprechenden Kulturen auf Agar zeigen die gleichen, bei 30° C etwas rascher fortschreitenden Wachstumserscheinungen, namentlich wächst das Mycel kräftiger.

Milch.

Nach 3 Tagen süßlich-fauliger Geruch, im übrigen noch ohne auffallende Veränderung, erst nach 5 Tagen weiche, gallertige Gerinnung. Es erfolgte dann allmähliche Auflösung, oder diese geht ohne vorherige Koagulation in Form langsamer Aufhellung des Nährbodens vor sich, bis eine hellgelbe, trübe Flüssigkeit entsteht, welche mit einem scharfen, steckrübenartigen Geruch und Geschmack behaftet ist. Nach 12 Tagen ist die Milch vollständig aufgelöst, darin befinden sich große, gelatinöse Flocken. Am Rande des Reagensgläschens hat sich ein Zoogloeenring gebildet.

Kartoffel.

Bereits nach 48 Stunden sichtbares Wachstum, nach 4 Tagen weißes (nicht rosagelbes bis hellbräunliches, wie Stoll behauptet) flaumiges Mycel ohne Verfärbung des Substrates, nach 12 Tagen ist fast die ganze Kartoffel mit einem weißen sammetartigflaumigen Ueberzug versehen.

Bouillon.

Wolkenartige Trübung, schwebende Flocken bereits nach 48 Stunden.

Brotkultur im Erlenmeyer-Kölbchen.

Nach 48 Stunden noch kein sichtbares Wachstum, nach 4 Tagen um den Einstich herum minimales Wachstum von unbestimmter Form, nach 8 Tagen ein erhabenes Schimmelpolster, das allmählich unter nachträglicher Faltenbildung sich vergrößert.

Pflaumenmus.

Spärliches Wachstum. Es bildete sich mit der Zeit ein Häufchen gelblich-weißer, glänzender bohnenförmiger Knöllchen von sehr harter Konsistenz, ca. 1×3 mm groß.

Auch in Würze relativ schwaches, langsames Wachstum. Nach 3 Tagen Trübung und Bildung von flockigen bis wolligen Mycelanhäufungen. Eine Decke wird nicht gebildet.

Wenn wir es in dem vorhergehend beschriebenen Organismus mit einem bereits bekannten Mycelpilz zu tun gehabt haben, so sind wir doch noch viel häufiger anderen Pilzen begegnet, deren morphologische Verhältnisse sich mit keiner der uns zugänglichen Beschreibungen von Mycelpilzen völlig decken wollten und die wir zunächst in keiner der verschiedenen Gattungen der Fungi imperfecti unterzubringen wußten. Während ihr Wachstum auf Gelatine äußerlich dem eines Oidium glich, ließ doch schon die oberflächliche mikroskopische Betrachtung andere Wachstumsformen erkennen, und andererseits zeigten die Kulturen namentlich auf flüssigen Nährböden Anklänge an gewisse unvollständig bekannte Pilze, wie namentlich an Monilia, Mycoderma, Cladosporium. In Nachstehendem seien zunächst die verschiedenen Wuchsformen beschrieben, worauf dann ein Vergleich mit den bekannten Vertretern der Gruppe der Fungi imperfecti vorgenommen werden soll.

Der erste dieser Pilze, No. 666 unserer Sammlung (Taf. II), ist ein häufiger Milchbewohner; es ist anzunehmen, daß er der Streu oder dem Futter (Getreide, Stroh, vielleicht auch Hackfrüchten) entstammt, denn er ist von uns mehrfach im Kuhkot (bei den Untersuchungen gelegentlich der Versuche über die Herkunft des Steckrübengeschmackes der Butter) gefunden worden. Er findet sich aber auch vielfach in fehlerhafter, mit einer wilden Bakterien- und Pilzflora behafteten Milch. So isolierten wir ihn unter anderem auch aus sogenannter frühzeitig gerinnender Milch. Die von einem Landwirt der Umgebung von Hamburg an einen Milchhändler dort gelieferte Milch, im Stall gewonnen, zeigte im November die Eigentümlichkeit, daß sie schon sehr bald nach der Ablieferung bei süßem Geschmack käsig wurde, vor allem das Kochen nicht vertrug, indem sie dabei gerann. Ferner wurde der Pilz nicht selten in Butter aus unpasteurisiertem Rahm, z. B. aus Hof- oder Gutsbutter, und selbst in solcher Butter bester Qualität, wenn auch in sehr geringer Zahl bezw. einzeln, angetroffen. Sein Auftreten in größerer Menge war auch immer mit dem Auftreten von größeren Mengen von Oidien-, Hefen-, Torula-Arten, mitunter sogar Schimmelpilzen verbunden.

Wachstum auf Molkengelatineplatten (Taf. II).

Nach 4—5 Tagen finden sich wenig oder kaum über die Gelatine sich erhebende, vielmehr in dieser fortwurzelnde, farblose bis mattgelbliche Pilzkolonieen, deren Kern mit einem nebligen, feuchtglänzenden Ring umgeben ist, dem unter der Gelatine verlaufenden Strahlenkranz der Kolonie. Die in der Gelatine wachsenden Fäden erscheinen, wie aus schnurartigen und in wellenartigen Windungen aneinandergereihten Zellen zusammengesetzt, welche teils zylindrische (Konidien-), teils polyedrische bis runde hefenartige Formen aufweisen (siehe Fig. 1). Wenn nach etwa 15 Tagen von dem Kern der über die Gelatine herausragenden Kolonie mit der Platinnadel etwas abgenommen wird, finden sich im Präparat sowohl oidienartige Einzelglieder, wie ei- und birnförmige bis kugelige Zellen (Fig. 2 und 3). Bei Einstellung eines dicht unter der Gelatine verlaufenden Fadens findet man diesen unverzweigt aus oidienartigen Stücken bestehend, sich dahinschlängeln. Man erhält den Eindruck, als ob der Faden nicht, wie das bei Oidium wohl der Fall ist, nachträglich in Oidien zerfallen wäre, sondern als ob er durch Anreihung eines neuen Oidium-Gliedes (einer Konidie bezw. einer Hefenzelle)

Weigmann und A. Wolff, Einige zum Rübengeschmack der Butter beitragende Mycelpilze.



Fig. 4.

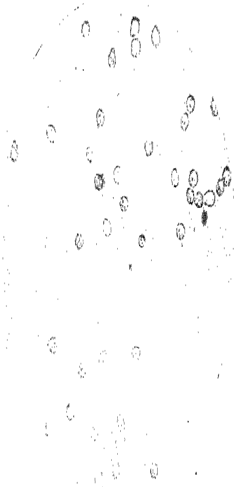


Fig. 6.

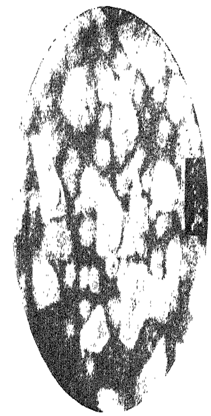


Fig. 1.

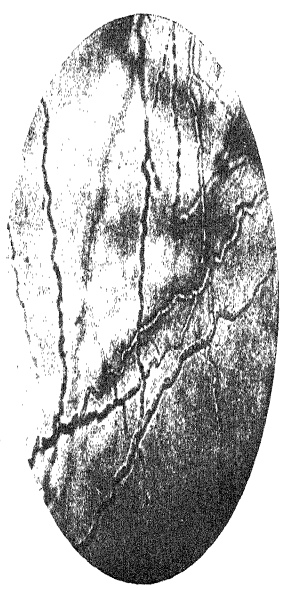


Fig. 2.

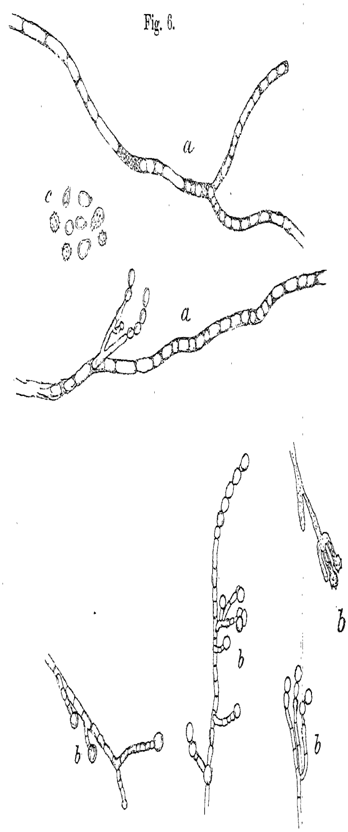


Fig. 3.

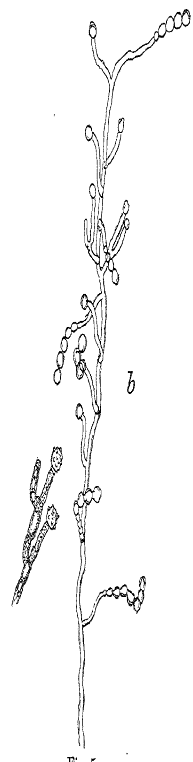


Fig. 5.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

weiterwachse (siehe Taf. Fig. 2). Die Fäden weisen auch viel stärkere Windungen auf, als das sonst der Fall ist.

Teile der Kolonie mit der Platinnadel aus der Gelatine herausgeholt, erweisen sich ebenfalls teils von oidien-, teils von hefenartiger Gestalt (siehe Taf. Fig 3). Die ersteren messen 5—7 μ in der Breite und 10—18 μ in der Länge, letztere sind teils rund mit ca. 7,5 μ im Durchmesser teils birnförmig und etwa 12,5—18 μ lang. Ihre Anordnung zeigt das Photogramm (Fig. 4), das eine kleine Partie eines Klatschpräparates der Pilzkolonie darstellt.

Milch bleibt fast völlig unverändert, nur scheint sie im Anfang nach etwa 10 Tagen etwas schleimigere Konsistenz anzunehmen, die aber wenig auffällig ist. Ein Wachstum des Pilzes ist nach einigen Tagen äußerlich nicht zu erkennen, doch zeigt ein Präparat, namentlich nach dem Aufrühren des Bodensatzes, die Anwesenheit eigenartig gebildeter Fäden an. Teilweise sind noch oidienartig zergliederte kurze Fäden vorhanden (wahrscheinlich noch von der Impfung von Molkengelatine her), teils sind diese zu kräftigen, aber kurzen Hyphenfäden ausgewachsen, welche seitliche, kurze, bakterienartig geformte Konidien einzeln oder wirtelständig (Fig. 5) abzweigen.

Nach mehreren, etwa 6—8 Tagen, zeigen sich einzelne, hauchartige Hautinselchen, welche aus hefe- bis bakterienartigen, meist zu zweien oder auch zu mehreren gruppierten Zellen bestehen (Fig. 5).

Nach ungefähr 4-wöchigem Wachstum des Pilzes in der Milch hat die Haut ziemlich die ganze Oberfläche überzogen, ist dabei jedoch dünn und kaum wahrnehmbar geblieben.

Bei der mikroskopischen Untersuchung erweist sie sich als ein sehr lockeres Gefüge von langen, teilweise verzweigten Fäden. Zwischen diesen finden sich in großen Massen einzeln oder zu zweien oder auch in 3—5-gliederigen Gruppen liegend, die schon erwähnten stäbchenartigen Abschnürungen, die also beim Wachstum des Pilzes entstanden sein müssen.

Die Milch ist auch nach Monaten noch unverändert.

In Würze bildet sich bei Zimmertemperatur nach einigen Tagen schon am Rande des Glases ein Kranz von filziger Struktur, der beim Schütteln leicht zerfällt, bei ruhigem Stehen sich zu einem dicken, filzigen Ring anhäuft. Dieser besteht aus lauter verzweigten oder unverzweigten Fäden mit vakuolenreichem Inhalt (Fig. 6). Bei 30° C bleibt diese Ringbildung aus.

Im Würzegelatinestich hat sich schon nach 2—3 Tagen ein kräftiges, mit strahligen Falten versehenes Oberflächenwachstum eingestellt. Der Stich reicht nur etwa bis zur Hälfte in die Tiefe, von ihm gehen unzählige, äußerst feine, haarähnliche Verzweigungen aus.

Die Molkengelatine-Strichkultur weist ein ähnliches Wachstum auf. Die vom Strich seitlich ausstrahlenden dicht verlaufenden Fäden bilden einen über die Gelatine nicht hervortretenden, mattglänzenden Belag.

Der Molkengelatinestich wächst bis etwa $^3/_4$ in die Tiefe und bildet erst nach mehreren Tagen kurze, seitliche, feinhaarige Ausläufer, die nach unten kürzer sind, so daß die Form einer umgekehrten Pyramide entsteht.

Auf Kartoffeln ist nach etwa 5 Tagen ein gekröseartiger, mit Flaum bedeckter, ziemlich hoher Belag entstanden. Die Kartoffel ist blauviolett verfärbt.

Auf feuchter Brotmasse ist nach 4 Tagen ein etwa 1 cm im Durchmesser messender flacher, am Rande buchtig bis faserig erscheinender Knopf von weißlich matter Farbe entstanden, der einer Hefenkolonie ähnlich sieht. Die Bestandteile dieser Kolonie sind in der Hauptsache teils konidien-, teils hefenartig aussehende kurze Zellen, zwischen welchen einzelne keulenförmige Oidienglieder vorkommen. Mit zunehmendem Alter der Kultur breitet sich der Belag aus, wird in der Mitte faltig, kraterförmig (vergl. Taf. III Fig. 6 des Pilzes No. 664) und behält dabei seinen matten Glanz.

Beim Wachstum einer einzelnen Zelle der Molkengelatinekolonie in einer mit dem gleichen Nährboden hergestellten Tröpfchenkultur entstehen durch seitliche Sprossung flaschenförmige Zellen, die zu einem mehr oder weniger mycelartig erscheinenden Sproßverband vereinigt bleiben (Fig. 7).

Der Pilz wächst auch sehr gut in Zuckerlösungen mit Hefewasser. Schon nach 2 Tagen hat sich am Flüssigkeitsrande eine filzige, ringförmige Wucherung gebildet, die sich leicht vom Glase ablöst. Die Flüssigkeit selbst bleibt klar oder enthält nur kleine farblose Flocken von der abgelösten Wucherung. Diese besteht aus einem Filz von Fäden, die nur insofern eine Abweichung gegen die Fäden aus anderen Nährmedien zeigen, als sie kräftiger sind und knorrige Formen und in kurzen Zwischenräumen gewissermaßen internodienartig knieförmige Ausbeulungen zeigen, die, von oben gesehen, beinahe Chlamydosporen ähnlich sind (Fig. 8). Zwischen den Fäden befinden sich wieder oidien- bis hefenartige Glieder.

An Zuckerarten wurden verwendet: Dextrose, Lävulose, Saccharose, Laktose, Galaktose, Maltose, Xylose, Raffinose und Arabinose, außerdem die Alkohole Mannit und Glyzerin. In allen Lösungen war gleichgutes Wachstum, nur in Xylose schien es ein wenig zurückzubleiben. In keiner entstand eine merkliche Gasbildung.

Aehnlich wie in Würze wächst der Pilz auch in einer Abkochung von Steckrübenblättern ohne Zusatz: Es bildet sich am Rande der Flüssigkeit ein filziger Ring, der leicht abfällt und als filzige Masse in der sonst klaren Flüssigkeit herumschwimmt.

Die beiden folgenden, dem vorhergehenden recht ähnlichen Pilze, No. 664 und 663 unserer Sammlung, fanden sich in sogenannter Sauermilch. Diese wird von einem Milchhändler einer mitteldeutschen Universitätsstadt aus „Reinkulturen“ des Instituts hergestellt, ist aber infolge der dazu verwendeten schlechten Milch oder vielleicht infolge starker Infektion der Meierei bezw. der Milchräume binnen wenigen Tagen so mit fremden Keimen und Pilzen durchsetzt, daß sie schlecht und vor allem bitter schmeckt, manchmal nicht säuern will, ein andermal käsig wird und zugleich unter starkem Gasdruck steht. Die bakteriologische Analyse einer Probe dieser Sauermilch ergab neben den Milchsäurebakterien der Reinkultur das Vorhandensein großer Mengen von Coli- und Aërogenes-Bakterien, von Säure-Lab-bildenden Kokken, Sarcinen sowie der beiden folgenden, einen kräftigen knoblauch- oder phosphorwasserstoffähnlichen Geruch erzeugenden Mycelpilze.

Der erstere dieser beiden No. 664 unserer Sammlung (Taf. III und IV) zeigt folgende Kulturbilder.

Mikroskopisches Bild (Taf. III und IV).

Elliptische, ovoide oder birnförmige Zellen, in Sprossung und Zweiteilung, ihr Inneres ist im Jugendstadium homogen oder undeutlich gekörnt, später in auffallender Weise mit stark lichtbrechenden Körperchen erfüllt. Nach 48 Stunden auf Gelatine $4,5 \times 7,5$ μ groß, auf Agar $5,4 \times 8,5$ μ, in Bouillon $5,4-7,0 \times 7,7-12,5$ μ und auf Kartoffel bis zu 7 μ breit. Dazwischen auf allen Nährböden oidienartige bis langgestreckte Formen, sogar ziemlich lange Hyphen, die Querteilung erkennen lassen. Der Inhalt ist mit Vakuolen und besonders deutlich die Brotkultur mit Körnchen erfüllt. Diese Zellen liegen meistens einzeln, doch auch zu zweien oder mehreren ohne planmäßige Anordnung nebeneinander, selbst die auf Brot sich später bildende, bis 1 mm starke Oberflächenhaut ließ keine eigentlichen Wuchsverbände (Zellverbände) erkennen; auch in der Kahmhaut auf gehopfter und ungehopfter Würze waren niemals charakteristische Zellverbände zu finden, doch waren hier öfter wie sonst langgestreckte Stücke und Hyphen zu konstatieren.

Milch besitzt nach etwa 4 Tagen schon einen 3—4 mm breiten, am Reagensrohr haftenden, bereits geschlossenen Ringansatz am Rande der Flüssigkeit und auch auf der Oberfläche einzelne dünne Hautstückchen. Diese vergrößern sich zu einer weißen, dicken, faltig verschlungenen Haut, deren Faltenwülste wieder von feinen dichten Querfältchen durchzogen sind. Wenn man mit der Platinnadel darüber hinwegstreift, findet man im Präparat hefenartige, selbst sprossende Gebilde und dazwischen kurze septierte Glieder von oidienartig zerfallenen Fäden (Fig. 1) und längere und kürzere Fadenstücke (Fig. 7), in dichter Verfilzung, aus welchen die Haut zusammengesetzt ist.

In Gipskulturen (bei 18—30° C gehalten) findet man neben den elliptischen bis runden, mit körnigem Inhalt gefüllten Zellen auch homogen erscheinende, das Licht stärker brechende Formen, die in Gestalt und Größe mit den ersteren übereinstimmen Es wurden auch innerhalb einer Zelle zwei, den Inhalt derselben ausfüllende, kugelige Gebilde gesehen, die möglicherweise Dauerformen darstellen, deren Natur aber nicht näher geprüft wurde.

In Pflaumenmus sind neben den gewöhnlichen, oft lang ausgezogene Formen zu beobachten, die eine Querwand erkennen lassen. Später, z. B. am 8. Tage, kann man Zellen von birnförmiger und unregelmäßiger Gestalt konstatieren, zwischendurch langgestreckte Formen, meistens $7,7-9,3 \times 7,0$ μ groß.

Von eingelagerten Reservestoffen war weder Stärke noch Iogen, Glykogen oder Volutin nachzuweisen; dagegen ergab eine Behandlung mit verdünnter Jod- Jodkaliumlösung und 1-proz. Ueberosmiumsäure, daß die Granula sich aus Fett zusammensetzten.

Weigmann und A. Wolff, Ueber einige zum Rübengeschmack der Butter beitragende Mycelpilze.

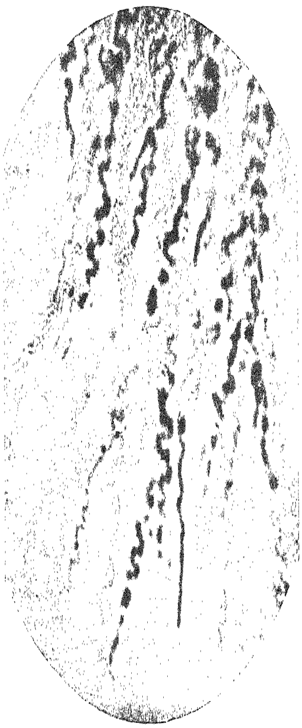


Fig. 1.



Fig. 4.



Fig. 6.

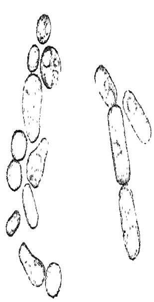


Fig. 3.

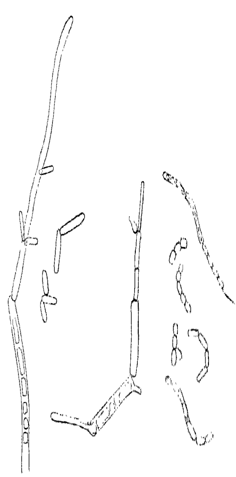


Fig. 5.



Fig. 7.

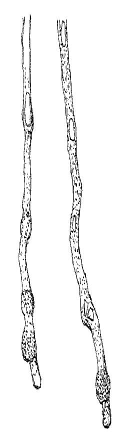


Fig. 8.

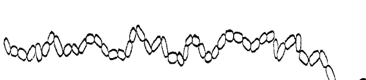


Fig. 2.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Weigmann und A. Wolff, Ueber einige zum Rübengeschmack der Butter beitragende Mycelpilze.

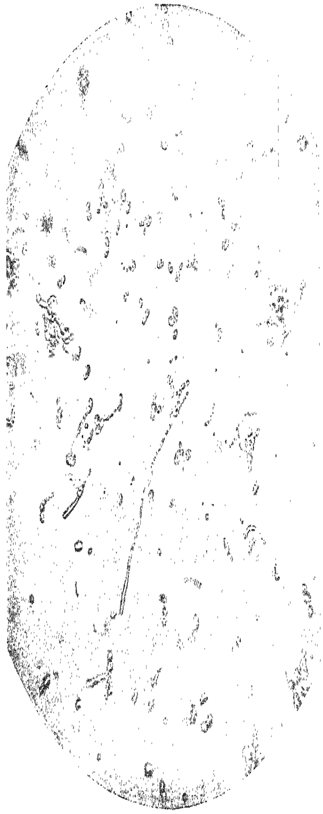


Fig. 1.



Fig. 2.

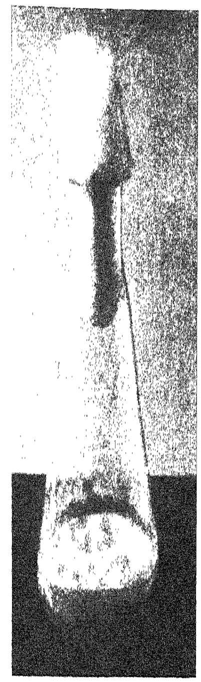


Fig. 6.

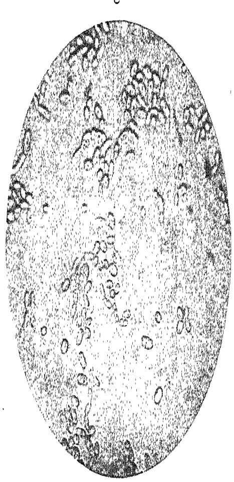


Fig. 5.



Fig. 3.



Fig. 4.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Kulturelles Verhalten.

Molkengelatineplatten: Kolonieen nach 3 Tagen nur $^1/_2$—$^3/_4$ mm groß, undurchscheinend weiß; die Tiefenkolonieen sind noch etwas kleiner. Bei schwacher Vergrößerung unter dem Mikroskop erscheinen sie als homogene dunkle, rundliche Flecke mit kurzen stacheligen Ausläufern, die breiter sind als bei dem folgenden Pilz. Nach 5 Tagen haben die Kolonieen auf nicht zu stark besetzten Platten die Größe von $2^1/_2$ mm erreicht und erscheinen mehlig bestäubt. Unter dem Mikroskop betrachtet. sind die Ausläufer ungleichmäßig breit und kurz septiert und zeigen das Bild, wie es in Fig. 2 dargestellt ist.

Molken-Agarplatten.

Nach 24 Stunden 2 mm große Kolonieen.

Mit Hilfe einer schwachen, eine Uebersicht gewährenden Vergrößerung kann man lange, dünne zickzackartig gewundene Ausläufer, mit kurzen Seitenzweigen wahrnehmen, an denen man bei scharfer Einstellung den Zerfall in Oidien bereits erkennen kann. Die Oberflächenkolonieen erreichen auf gut besetzten Platten nach 8 Tagen eine Größe von 2—3 mm und sind mit einem mehligen Staub bedeckt.

Der Habitus der Kolonieen sowohl auf Molkengelatine wie auf Molken-Agar ist gegen die des folgend beschriebenen Pilzes (663) insofern verschieden, als der Kern der Kolonie nicht so dicht ist, sondern bereits mehr strahlig geteilt erscheint und die Ausläufer nicht mit traubig sitzenden Sprossungen versehen sind, sondern als einfache, wenig verzweigte Fäden nach außen streben (vergl. Fig. 2 und 3 der Taf. III gegen Fig. 2 und 3 der Taf. V). Durch Einstellung bei stärkerer Vergrößerung ist zu erkennen, daß die Fäden in ihrem äußeren Teile nicht septiert sind und der Zerfall in Oidien erst weiter innen beginnt, wie das beim typischen Oidium lactis der Fall ist. Dann aber erkennt man, namentlich an den kurzen Seitenzweigen, daß das Spitzenwachstum auch durch eine richtige Sprossung herbeigeführt werden kann (Fig. 3).

Wenn man mit der Platinnadel über den mehligen Anflug hinwegstreift, erhält man teils dünne langstäbige, teils dickere Glieder, ebenfalls von Stäbchenform, ähnlich den bekannten Oidiengliedern, teils auch eiförmige und schließlich deformierte resp. unregelmäßig geformte Zellen (Fig. 4).

Gelatinestichkultur.

Zwar ist nach 48 Stunden auch in der Tiefe Wachstum zu beobachten, doch wird es nach der Oberfläche hin bedeutend stärker, die Auflagerung ist schimmelartig und erreicht nach etwa 10 Tagen die Glaswandung. Der Stichkanal trägt Knötchen.

Milchzucker-Agarstich.

Wachstum nach der Spitze zu rasch abnehmend, Stichkanal mit Härchen besetzt, die in Büscheln stehen. Auflagerung rund, nach 48 Stunden bereits 3 mm im Durchmesser, nach 8 Tagen fast die ganze Oberfläche schimmelartig bedeckend.

Strichkulturen.

Auf Molkengelatine (20° C) entwickelte sich nach 48 Stunden ein 1—1,2 mm breiter weißer, matter, dünner Belag, der nach einiger Zeit schneeweiß und mehlig bestäubt (wie Schimmel) erscheint. Auf Agar, bei 30° C, war der Belag nach 48 Stunden 3—4 mm breit matt (Wachstum also auch bei Strichkultur ausgedehnter auf Agar gegenüber Gelatine, ebenso wie auf der Plattenkultur) am Rande feine Härchen, später mehlig bestäubt. In Kondenswasser finden sich direkt hefenartige Zellen (Fig. 5).

Milchzucker-Agarschüttelkultur.

Aërobes Wachstum, nur ca. $^1/_2$ cm in die Tiefe gehend, später bildet sich an der Oberfläche ein Rasen. Gas wurde nicht gebildet.

Bouillon.

Es entsteht nach 48 Stunden bereits eine derbe weiße Haut, auch am Boden findet sich eine Ansammlung von bakterienartigen Zellen, die Haut zerfällt leicht in Stücke.

Milchzucker-Bouillon.

Keine Trübung bei Zimmertemperatur, nur spärliches Wachstum, schwache Molkenbildung, feine Flocken. Nach 7 Tagen eine zarte rein-weiße Haut.

Kartoffel.

Nach 48 Stunden gelblich weißer, mäßig erhabener Belag von mattem Aussehen. Später wird die Kartoffel bläulich-grau verfärbt, der Belag ist zottig-faltig und nimmt eine gelblich-graue Farbe an.

Weigmann und **A. Wolff**, *Ueber einige zum Rübengeschmack der Butter beitragende Mycelpilze.*



Fig. 1.



Fig. 3.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena**.

Milch.

Bei 30° C selbst nach 14 Tagen scheinbar noch unverändert, nach 20 Tagen Koagulation in der Rahmpartie, dann durch die ganze Schicht schwache, flockige Gerinnung; der anfangs nur schwache Geruch wird intensiv käsig. Die Art des Wachstums des Pilzes ist oben bereits beschrieben.

Brotbrei im Erlenmeyer-Kölbchen.

Nach 24 Stunden eine matte Haut von unregelmäßiger Gestalt 2 cm im Durchmesser. Nach 3 Tagen erreicht diese bereits die Glaswandung, sie ist von gelblichgrauer Farbe und überzieht sich mit weißem Reif. Nach 14 Tagen hat sie eine Dicke von ca. 1 mm erreicht und ist von bedeutender Zähigkeit (Fig. 6).

Auf Pflaumenmus

zeigt der Pilz (wie der nachfolgende) schlechteres Wachstum als auf Brot, erst nach 48 Stunden entsteht ein kleines, zartes Häutchen, das allmählich größer wird, aber dünn und matt bleibt; erst später dichtere, aber wenig ausgedehnte Anhäufung.

Ungehopfte Würze.

Im Reagensrohr bei 30° C: Nach 48 Stunden weiße Kahmhaut, die sich in der Glaswandung hochzieht; in gehopfter Würze schlechteres Wachstum und erst am 4. Tage Bildung einer zusammenhängenden Haut.

Im Erlenmeyer-Kölbchen entstehen bei Zimmertemperatur nach 48 Stunden zunächst kleine Inselchen einer feinen matten Haut, während sich am Boden ein sandiger Satz von geringer Menge vorfindet. Am folgenden Tage ist die oben schwimmende Haut geschlossen; sie wird dann allmählich dichter, bis sie nach 7 Tagen (von der Impfung an) eine derbe, weiße, gekräuselte Decke darstellt, die sich immer mehr verstärkt und mehr kräuselt. Auch der Bodensatz nimmt an Dicke der Lage zu.

Bei 30° C ist hier — entgegen den übrigen Pilzen — das Wachstum ein rascheres.

Die ausgewachsene, einige Millimeter dicke Decke besteht oben aus ziemlich festen, nur in kleinen Bröckchen abschabbaren Kräusen, die sich aus den gleichen Elementen zusammengesetzt erweisen, wie die Kulturen in Milch (Fig. 1) und auf Agarstrich (Fig. 5); nur daß die Verbände gewöhnlich um einige Glieder länger sind (etwa wie die längeren Verbände auf Fig. 6), teilweise mehr aus länglichen oidienartigen Zellen bestehen, und daß sich des öfteren längere Fäden dazwischen vorfinden. Der untere Teil der Decke besteht aus den gleichen Elementen, aber unter Vorherrschen der fädigen Bestandteile (Taf. IV, Fig. 1).

Die Kahmhaut ist also nicht, wie bei Monilia, zu einem Mycel ausgewachsen, sondern ist aus lauter losen für sich bestehenden ineinander verfilzten Elementen gleicher Art, wie in den sonstigen Kulturen, d. h. aus hefe- und oidienartigen Zellen in Einzelindividuen und kleinen Verbänden zusammengesetzt.

Der in der Kultur sich vorfindende Bodensatz besteht, wie die Taf. IV, Fig. 2 zeigt, aus kurzen, 2—8-gliederigen Sproßverbänden.

Auch auf der Abkochung von Steckrübenblättern wächst der Pilz 664 zuerst in Form einer feinen Kahmhaut, die sich aber mit der Zeit ziemlich verdickt und kräusenartig wird.

Optimaltemperatur

bei 30° C. Bei 20 und 37° C schwächeres Wachstum.

Von sämtlichen bekannten Zuckerarten wurde eigentümlicherweise nur Galaktose vergoren, Milchzucker selbst dagegen nicht.

Das Verhalten des Pilzes in Zuckerlösung mit Hefewasser ist das gleiche, wie beim vorhergehenden Pilz.

Der nachfolgend beschriebene Pilz, No. 663 der Sammlung (Taf. V, Fig. 1—3) steht dem vorhergehenden sehr nahe, zeigt aber Verschiedenheiten namentlich in der Art des Zerfalles der Hyphenausläufer bezw. der Abschnürung neuer Glieder. Während bei ersterem die abgeschnürten Glieder mehr hefeartiger Natur sind und deutlich Sprossung aufweisen, sind sie hier mehr oidienartig, weisen wenigstens keine Sprossung auf.

A. Mikroskopischer Befund (Taf. V, Fig. 1—3).

In Molkengelatine nach 3 Tagen ein 10,5—12,5 μ breites Mycel, lange Hyphen, mit mehr oder weniger deutlicher Septierung und sehr deutlich abgesetzten Gliedern,

die zu Ketten vereinigt sind. Die Einzelglieder sind im allgemeinen doppelt so lang als breit, an den Enden stark abgerundet, nach dem Loslösen aus dem Verbande runden sie sich anscheinend zuweilen noch stärker ab, so daß sie alsdann elliptisch, oval oder rund erscheinen, meistens jedoch haben sie Zylinderform mit stark abgerundeten Enden. Diese Gebilde dürften als Konidien (Oidien) anzusprechen sein, die durch Zerfall der Hyphen entstanden sind. Nach einiger Zeit kann man Streckung und Teilung dieser Zellen beobachten. Auf Agar sind im wesentlichen gleiche, jedoch etwas kleinere Formen zu finden. Auf Kartoffel speziell treten an Oidium lactis erinnernde Formen auf; nicht selten treibt ein Hyphenstück im Verbande seitlich aus der einen Ecke einen schmäleren Ast. Nach 8 Tagen findet man neben den Konidien nur sehr selten noch ein Hyphenstück; die Konidien sind vielfach in Teilung begriffen, derart, daß sich das eine Ende spitz auszieht, mitunter sogar beide Enden zu gleicher Zeit. In Milch bildet sich in 4—5 Tagen eine auf der Oberfläche schwimmende schleimige Zoogloea, welche aus einem dichten Gewirr von längeren und kürzeren verzweigten und unverzweigten Fadenstücken besteht. Auf Brotkultur (Brotbrei im Erlenmeyer-Kölbchen) sind nach 24 Stunden zahlreiche lange Hyphen, die zuweilen unechte Verzweigung zeigen, vorhanden. Diese wie auch die gebildeten Konidien sind auf diesem Nährboden besonders deutlich, und wie auch auf Kartoffel, mit stark lichtbrechenden Körnchen von ca. 0,5 μ Durchmesser erfüllt; zu späterer Zeit wieder findet man fast ausschließlich zylindrische Glieder (12,5 × 2,5 μ), die Vakuolen und grobkörnigen Inhalt aufweisen. Auf Pflaumenmus sind nach 24 Stunden Konidien von bereits bekannter Gestalt und Hyphen, die eine Länge bis zu 90 μ erreichen, zu konstatieren, nicht selten erscheinen sie angeschwollen und gekrümmt.

Vorstehend beschriebene Formen sind auch in gehopfter und ungehopfter Würze vertreten.

Auf Gipsblöckchen gebracht und bei 18° C gehalten, zeigen sich nach 24 Stunden ganz kurze, bis runde Glieder, einzeln oder zu Ketten vereinigt; selten nur ungegliederte Hyphen (Fig. 3). Ihr Inhalt ist meist mit Vakuolen und Körnern gefüllt. Schon nach 24 Stunden sieht man an den Enden kurzer und langer Hyphen abgerundete quadratische und kugelige Verdichtungen, die sich mit der Zeit abtrennen. Bei 30° C gehaltene Gipskulturen weisen dieselben Formen auf, es heben sich hier die Vakuolen und Granula schärfer ab, letztere sind besonders in den Verdichtungen stark vertreten.

Färbepräparate zeigten, daß es sich in jedem Falle, mochten die Gebilde stärker oder schwächer lichtbrechend sein, um Vakuolen, jedenfalls nicht um Endosporen handelte. Bei Zusatz von Jod-Jodkalium erfolgte keinerlei Blaufärbung, dagegen trat Gelbfärbung ein und zumal färbten sich die Kappen intensiv gelb; bei kurzer Einwirkungsdauer sieht man an den noch ungefärbten Hyphen bereits stark gelb gefärbte, körnige Kappen sitzen. Der Umstand, daß sich diese Körnchen mit Jod-Jodkalium dunkelgelb mit 1-proz. Ueberosmiumsäure braun färben, läßt darauf schließen, daß sie sich aus Fett zusammensetzen. Von anderen Reservestoffen konnte nach Arthur Meyers Methode auch Volutin nachgewiesen werden.

Die in Gipskultur so häufig beobachteten kappenartigen Verdichtungen werden selten auch in der Mitte homogen erscheinender Hyphen gebildet. Sie können sich vergrößern und Vakuolen bilden. In jungen Kulturen sind stets bedeutend mehr Hyphen als Konidien zu finden, in alten Kulturen umgekehrt mehr Konidien als Hyphen.

Kulturelles Verhalten.

Molkengelatineplatten: Nach 3 Tagen 2—3 mm große, flache Kolonieen von strahligem Bau, durchscheinend weiß; in der Mitte hat sich eine Verdichtung gebildet, ein gleiches Aussehen, jedoch ohne diese Verdichtung, haben die Tiefenkolonieen. Bei 90-facher Vergrößerung sieht man verästelte, ziemlich gerade, nicht sehr dichtstehende Ausläufer; während sie aber nach 48 Stunden noch fadenförmig glatt erscheinen, zeigen sie sich nach 3 Tagen, deutlicher noch nach 5 Tagen, kurz gegliedert und gekräuselt, mit runden, hefenartigen Konidien dicht besetzt, so daß sich die einzelnen Ausläufer wie lange Blütenwedel ausnehmen (Fig. 1). Mit der Zeit breiten sie sich weiter aus. Die Kolonieen selbst sind nach 5 Tagen auf nicht zu stark besetzten Platten 5 mm groß. Die Verdichtung in der Mitte hebt sich alsdann noch deutlicher ab. Es läßt sich schwer Material abimpfen, weil die Organismen mit dem Nährboden fest verwachsen sind. Vom 3.—5. Tage kräftiger Knoblauchgeruch.

Bei stärkerer Vergrößerung erkennt man, daß sowohl die hyphenartigen Fäden wie die Abzweigungen durch Teilung in kleine eiförmige Glieder zerfallen sind, die wegen ihrer völlig rundlichen Form ebensogut als hefenartig, wie als konidienartig angesprochen werden können (Fig. 2). Die ursprüngliche Hyphenform der Ausläufer und das erst später eintretende Zerfallen dieser in die mikroskopisch kleinen Glieder zeigen, daß diese letzteren nicht durch Sprossung entstanden sind, und sie sind ein Beleg für

Weigmann und A. Wolff, Ueber einige zum Rübengeschmack der Butter beitragende Mycelpilze.

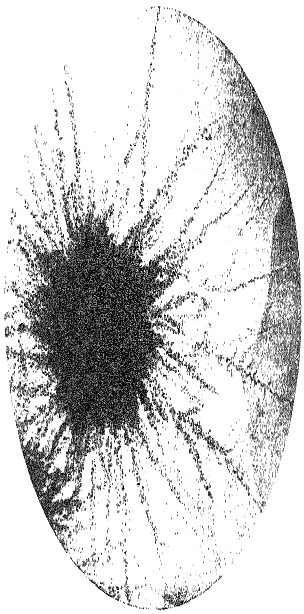


Fig. 1.

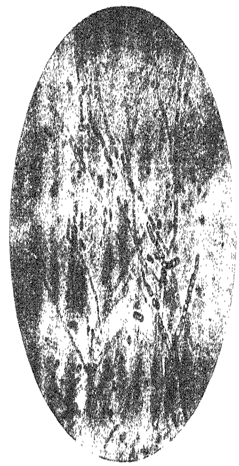


Fig. 3.



Fig. 2.

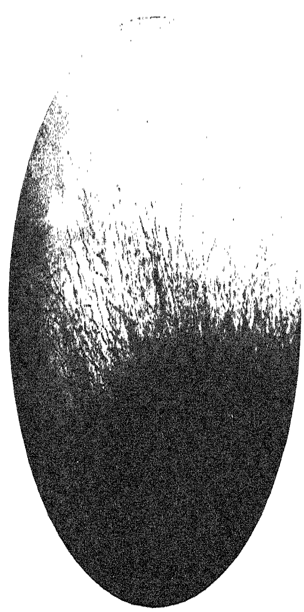


Fig. 4.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

die Oidium-Natur des Pilzes resp. dafür, daß es sich bei diesen Pilzen, nicht wie Grimm meinte, um eine Torula handelte. Freilich erhält man bei etwas oberflächlicher Verfolgung die Anordnung der Oidienglieder den Eindruck, als ob durch seitliche Sprossung büschelige Anhäufungen stattgefunden hätten, ähnlich wie bei Monilia, es ist aber viel wahrscheinlicher, daß diese Anhäufungen die Folge nebenherlaufender kurzer ein- bis mehrgliedriger Abzweigungen sind, die besonders gern an den Windungen der vielverschlungenen Fäden entstehen (Fig. 2).

Auch kann man mit Bezug auf das Spitzenwachstum der mehr an der Oberfläche liegenden Ausläufer im Zweifel sein, ob sie sich durch den Ansatz resp. die Sprossung eines hefenartigen Gliedes verlängern, oder ob die Glieder nur kurz gebliebene Fädenansätze sind. Wir möchten das letztere annehmen und deshalb den Pilz mehr zur Klasse der Oidien rechnen.

Agarplatten.

Nach 48 Stunden 1 mm große, runde, seidenglänzende Kolonieen. Bei schwacher Vergrößerung unter dem Mikroskop kann man pallisadenartig nebeneinander verlaufende gerade Strahlen von ungleicher Länge wahrnehmen. Später bilden sie zahlreiche, ganz kurze Seidenästchen und gliedern sich in ovale Stücke.

Gelatinestich.

Das Wachstum geht nur 2—2$^1/_2$ cm in die Tiefe, jedenfalls niemals bis zum Ende des Stichkanals. Dieser ist mit äußerst feinen langen Härchen dicht besetzt, die an Länge nach unten zu abnehmen. Die hautartige mattweiße Auflagerung ist nach 3 Tagen 4 mm im Durchmesser und nimmt mit der Zeit an Umfang zu, nach 8 Tagen berührt der feinhaarige Saum die Glaswandung. Nach 5 Tagen beginnt auf der Oberfläche eine Faltenbildung, die später sehr deutlich wird. Die mattweiße faltige Haut sinkt ganz allmählich napfartig in die Gelatine ein, ohne sie jedoch sichtbar zu verflüssigen.

Molkengelatine-Strichkultur.

Der dünne, mattweiße Belag ist nach 48 Stunden 3—4 mm breit, aus feinen Härchen, die von einer Mittelrippe ausgehen, zusammengesetzt, besonders am Rande sehr deutlich zu erkennen; später verwischt sich dieses Bild; nach 6 Tagen tritt fortschreitende Faltenbildung ein. Nach 8 Tagen ist fast die ganze Strichoberfläche bewachsen, doch bleibt die Faltenbildung nur auf die Mitte beschränkt. Nach einem Monat etwa tritt eine Erweichung des Nährbodens ein.

Auf Agarstrich bei 30° C gehalten, war das Wachstum schwächer, der Belag nach 8 Tagen nur 2—3 mm breit, am Rande ebenfalls mit Härchen oder aber mit Knötchen besetzt. Vom 3.—5. Tage kräftiger Knoblauch-, scheinbar sogar etwas senfölartiger Geruch.

Milchzucker-Agarstich.

Stichkanal knötchentragend, in der Tiefe bedeutend schwächeres Wachstum. Auflagerung am 6. Tage $^1/_2$ cm im Durchmesser, gelblichweiß, wachsartig, mit undeutlicher Zeichnung.

Milchzucker-Agar-Schüttelkultur.

Aërobes Wachstum, nur etwa $^1/_2$ cm in die Tiefe gehend, keine Gasbildung.

Bouillon, bei 30° C.

Nach 48 Stunden einige einzelne, flockenartige Kolonieen, die beim Schütteln aufwirbeln und später kräftigen Bodensatz bilden, bei 18° C schwächeres Wachstum. Bei Gegenwart von Milchzucker nicht besser; feine Flocken, schwache Wolkenbildung; es kam nicht zur Bildung einer Oberflächenhaut. Keine Trübung.

Kartoffel.

Nach 48 Stunden ein dicker, 3 mm breiter, erhabener matter Belag von geblichweißer oder grauer Farbe; der Nährboden selbst ist bläulichgrau gefärbt. Nach 4 Tagen ist der Belag gekröseartig und grau (aschfarben) und mit weißem Flaum bedeckt. Nach 8 Tagen hat der Belag eine Breite von 3—4 mm erreicht und eine gelblichgraue Farbe angenommen.

Milch.

Nach 4 Tagen hatte sich an der Oberfläche an der Glaswandung ein Ring gebildet. Die Milch selbst hielt sich bei 30° C anscheinend unverändert, erst nach 14 Tagen trat

Weigmann und A. Wolff, Ueber einige zum Rübengeschmack der Butter beitragende Mycelpilze.

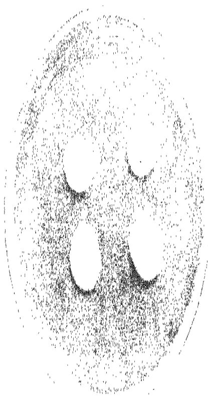


Fig. 1.

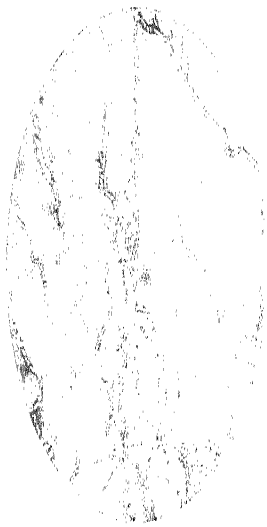


Fig. 2.



Fig. 5.

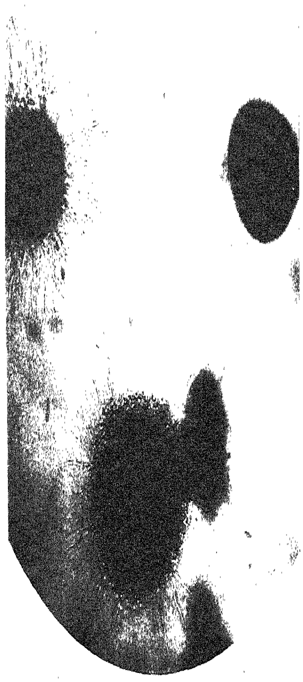


Fig. 4.

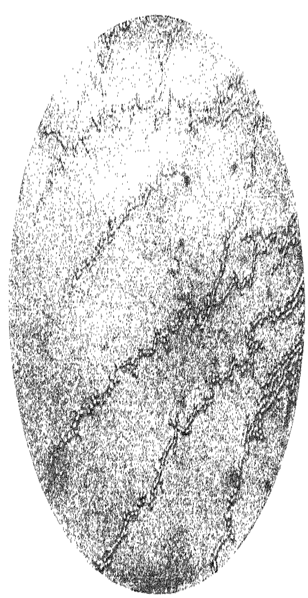


Fig. 3.

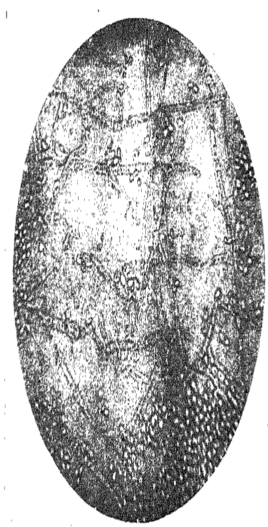


Fig. 6.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

scheinbar schwache Peptonisierung ein. Eine Koagulation fand nicht statt. Der Geruch war süßlich-(faulig) käsig.

Gehopfte Würze.

Schon am 2. Tage ein schwacher feinflockiger Bodensatz und an der Glaswandung ein schwacher filziger Ring, welch letzterer beim Bewegen der Flüssigkeit zu Boden sinkt, die Würze selbst bleibt klar. Bei höherer Temperatur (30° C) entsteht zunächst nur ein schwacher Bodensatz, die Ringbildung aber bleibt aus. An darauffolgenden Tagen nimmt infolge des kräftigen Wachstums sowohl der Bodensatz wie namentlich die Bildung von erneuten, aber immer wieder in die Flüssigkeit versinkenden Ringansätzen, zu, bis die Flüssigkeit mit filzigen Stücken erfüllt und die Oberfläche mit einer zarten matten Haut zugewachsen ist. Die Filzmasse besteht bei mikroskopischer Betrachtung aus längeren, aber auch kürzeren Fäden und konidien- oder oidienartigen Gliedern, wie sie in Fig. 3 dargestellt sind.

In einer Abkochung von Steckrübenblättern bildet der Pilz eine schwammige, filzige Decke und darunter in der Flüssigkeit wolkige Flocken. Er ähnelt darin dem Pilz No. 666, der jedoch mehr zur Ringbildung neigt und nicht so leicht zur Deckenbildung übergeht.

Auch bei diesem Pilz ist das Verhalten in bezug auf Wachstum und Gärtätigkeit das gleiche wie bei No. 666.

Der nachstehende Pilz No. 667 der Kieler Sammlung (Taf. V u. IV) entstammt, wie der an zweiter Stelle genannte (No. 666 der Sammlung), der dort erwähnten sog. frühzeitig gerinnenden Milch. Er unterscheidet sich von diesen der mehr oidenartig wächst durch Eigenschaften, die ihn den Mycoderma- oder Monilia-Arten zuführen.

Auf Molken-Pepton-Gelatine entstehen am 2.—3. Tage blaßweiße, halbkugelig aus dem Nährboden herausragende, kleine, $^1/_2$—1 mm große runde Kolonieen, die bei schwacher Vergrößerung rosettenartig geformt erscheinen und mit einem aus kürzeren und längeren hyphenartigen Fäden besetzten Rand versehen sind (Taf. V, Fig. 4). Riesenkolonieen des Pilzes auf dem gleichen Nährboden sind flach, rund und ganzrandig, am Rande etwas heller und nicht scharf umgrenzt (Fig. 1, Taf. VI) bei mikroskopischer Besichtigung zeigt der Rand eine ganz schmale Zone von hyphenartigen Ausläufern. Die Kolonieen bestehen aus einer dichten, festen Auflagerung, die, vom Zentrum ausgehend, mit dicken Falten belegt ist (Fig. 1, Taf. VI).

Die in der Tiefe liegenden Kolonieen haben bei schwacher Vergrößerung die Form von aus feinen Hyphen bestehenden Strahlenbündeln.

Bei etwa 450-facher Vergrößerung erweisen sich die Ausläufer der Kolonieen als gewundene, an den Knickungen mit kurzen seitlichen hefenartigen Sprossungen versehene Hyphenfäden, erfüllt mit glänzenden Körpern. Fig. 2, Taf. VI stellt solche fädige Ausläufer dar, nachdem die Kolonieen auf dicht besäter Platte 7 Tage alt geworden ist. Bei noch älteren Kolonieen tritt dann klar hervor, daß die glänzenden Körper Konidien sind, in welche die fädigen Ausläufer bei behindertem Wachstum zerfallen (Fig. 3, Taf. VI).

Auf Milchzucker-Agarplatten, die bei 37° C gehalten sind, erscheinen schon am 2. Tage nach der Impfung kleine runde mattweiße Kolonieen, von denen die ganz an der Oberfläche liegenden den Charakter von Hefenkolonieen zeigen, also bei schwacher Vergrößerung dunkelschwarz in der Mitte sind und am Rande einen hellen Saum besitzen, an dem die einzelnen Zellen erkennbar sind (Fig. 4, Taf. VI). Unterhalb dieser Kolonieen ragen dann längere Hyphenfäden hervor, die in den Nährboden reichen. Andere Kolonieen zeigen eine ganz geschlossene Form ohne Hyphenfäden. Die unter der Oberfläche wachsenden Kolonieen bestehen ganz aus konzentrischen, strahlig angeordneten Hyphenfäden. Nach etwa 3 Tagen erscheinen die Kolonieen 1—$1^1/_2$ mm groß, ebenfalls mattweiß, rund, in der Mitte katerig erhoben.

Bei schwacher Vergrößerung erkennt man wieder hefenartige Kolonieen mit einem aus erkennbaren Einzelzellen bestehenden Rand ohne Hyphenausläufer und Kolonieen mit einem strahligen Rand. Die letzteren liegen etwas mehr in oder unter der Oberfläche des Nährbodens.

Auf Kartoffel erhält man nach wenigen Tagen einen mattweißen, am oberen trockenen Ende mehlig bestäubten Strich. Auch die Strichkultur auf Gelatine ist ähnlich beschaffen, doch ist hier der Strich vielfach von Ausbuchtungen fast faseriger Struktur bekränzt.

Die Stichkultur in Gelatine zeigt kräftiges Oberflächenwachstum, der Strich reicht anfangs nur etwa 2 cm weit in die Tiefe; er ist feinfaserig begrenzt. Die

Oberflächenkolonie ist kreisrund, in der Mitte erhaben, mattweiß, fast etwas bläulich und mehlig, der breite äußere Rand hauchartig dünn.

In Bouillon kein Wachstum. In gehopfter Würze entstehen nach 2 Tagen an der Oberfläche schwimmende inselartige, feine, mattgraue Häutchen, die sich langsam zu einer auch an der Glaswandung hinaufwachsenden Kahmhaut vereinigen. Diese bleibt auch nach ganz langer Zeit faltenlos und zeigt keine Kräusen. Die Würze ist flockig getrübt, ebenso ist der Bodensatz flockig. Die Kahmhaut besteht, wie die Fig. 5, Taf. VI zeigt, aus einzelnen größeren oder kleineren Sprossungen hefeartiger Zellen, zwischen welchen vereinzelt kürzere Hyphenstücke verstreut liegen, im Bodensatz befinden sich neben größeren Anhäufungen hefeartiger Zellen (Fig. 6, Taf. VI) und neben kleineren, nur aus wenig Zellen bestehenden Sprossungen lange und kurze Hyphenstücke.

In einer Abkochung von Steckrübenblättern wächst er ebenfalls in Form einer dünnen matten, an der Glaswand sich hochziehenden Kahmhaut, die jedoch nicht, wie beim Pilz 664, später Kräusen bildet, sondern dünn und matt und eben bleibt.

Auch in Milch (Magermilch) entsteht an der Oberfläche eine am Glase sich hochziehende dünne Kahmhaut, die aus den gleichen Sproßverbänden besteht wie die Kahmhaut auf der gehopften Würze.

Eine Vergärung von Zucker und höheren Alkoholen wird von diesem Pilz ebensowenig verursacht, wie von den vorhergehenden.

Wenn man der Frage nachgeht, zu welcher Gattung die Pilze No. 663 bis 667 gehören, so wird man zunächst, wie schon erwähnt, auf die Vermutung geführt, daß sie sämtlich Oidien sein möchten, nur zeigen sie alle wesentliche Abweichungen vom typischen Oidium, insofern als sie verschiedentlich mehr hefenartige Formen aufweisen. Vor allem weicht Pilz No. 667 stark vom Oidium ab schon äußerlich durch die Kolonieform auf festen Nährböden.

Um diesen letzteren, da er sich gegenüber den anderen dreien verschieden verhält, vorwegzunehmen, so würde in Frage kommen, ob man ihn zu den Mycoderma- oder zu den Monilia-Arten rechnen soll. Von den Torulaceen unterscheidet er sich einmal durch die verzweigten Sproßverbände (vergl. Fig. 5, Taf. VI) gegenüber den bei der ersten Untergruppe auftretenden einreihigen Verbänden sowie (gegenüber der zweiten Untergruppe) durch den Mangel des Gärvermögens. Es kommen also nur Monilia und Mycoderma in Frage.

An die Mycodermen erinnert der Pilz No. 667 durch die Art der Deckenbildung. Wie erwähnt, entsteht diese in der Weise, daß sich zunächst kleine, sehr zarte, farblose Inselchen bilden, die sich durch Ansatz vergrößern, bis sie eine zusammenhängende, aber leicht zerbrechliche Haut ausmachen, die ganz das Aussehen einer richtigen Kahmhaut hat. Auch zieht sie sich, ganz wie eine Kahmhaut an der Wandung des Glases in die Höhe. Dagegen ist die Gestalt der Zellen eine mehr rundliche wie pastoriane und das Wachstum auf festen Böden entspricht nur bei ganz oberflächlicher Betrachtung dem der Mycodermen, namentlich die Kolonieen auf Milchzuckeragar zeigen eine für Mycodermen untypische Verzweigung in den umgebenden Nährboden. Noch weniger ist der Zerfall der Hyphen in Konidien eine Eigentümlichkeit der Mycodermen.

Mit Bezug auf letzteren Umstand möchte man glauben, daß man es mit einem wirklichen Oidium zu tun hat, wenn diese Art des Zerfalles nicht auch bei anderen Gattungen, wie z. B. Monilia, vorkäme. Auch die Auszweigung von Hyphenfäden in den umgebenden Nährboden dürfte kein Gegenbeweis für die Zugehörigkeit des Pilzes zur Monilia-Gruppe sein. Für diese spricht vielmehr das Wachstum des Pilzes in Form einer Hefenkolonie, wie sie sich in den Fig. 1 und 4, Taf. VI dokumentiert, ferner die Bildung einer aus Sproßmycel und hyphenartigen Fäden bestehenden sehr lockeren und leicht zerfallenden Kahmhaut. Im

Bodensatz finden sich sogar Oidium-artige Zellen vor, freilich nicht wie bei Monilia variabilis mit Höckerchen für Torula-artige Ansätze. Vor allem aber möchten die seitlichen Sprossungen an den Hyphenfäden (siehe Fig. 2 und 3, Taf. VI) ein Merkmal dafür sein, daß der Pilz der Gattung Monilia nahesteht.

Der Umstand des Oidium-artigen Zerfalls und des Mangels an Gärvermögen läßt uns aber doch daran festhalten, den Pilz der Gattung Oidium zuzurechnen; mit Rücksicht auf sein Hinüberneigen zur Gattung Monilia möchten wir ihn mit dem Namen Oidium moniliaforme I belegen.

Eine ihm nicht fernstehende Oidium-Art dürfte das Oidium pullulans Lindners sein, das H. Wichmann ja auch gerne zu den Monilien gestellt sehen möchte (siehe Lafar, Technische Mykologie. Bd. IV. p. 345, eine eingehendere Beschreibung ist uns leider nicht zugänglich), doch scheint dieser von unserem Pilz unter anderem dadurch abzuweichen, daß er auf Würze neben der Haut auch einen starken Ring bildet, während sich Nr. 667 an der Glaswand hochzieht.

Dem Oidium pullulans ziemlich nahe stehen dürfte auch der Pilz No. 664, der überhaupt mit No. 667 Aehnlichkeit hat. Es ist namentlich die Bildung der Kahmhaut in Würze, Milch und Rübenblätterabkochung, sowie das Wachstum auf der Kartoffel, welche beide Pilze einander nahe bringt. Doch zeigen sich auch hier schon, wenigstens beim Aelterwerden der Kulturen, Unterschiede, wie die Bildung von Kräusen auf der Kahmhaut von No. 664, während die von No. 667 glatt, bleibt. Noch größere Abweichungen treten im Wachstum auf den festen Nährböden hervor, wo No. 667, wie bekannt, hefenartige, No. 664 dagegen oidienartige Kolonieen bildet. Der letztere Pilz zeichnet sich vor allem aber durch die seitliche Abschnürung hefenartiger Sprossen der Zellen an den Knickungen der hyphenartigen in Oidien zerfallenden strahligen Ausläufer der Kolonieen aus. Während man auf Grund der seitlichen Sprossung den Pilz ebenfalls zur Gattung Monilia stellen könnte, dürfte doch das Ueberwiegen von Oidium-Gliedern in dem auf den Kulturen entstehenden weißen Flaum sowie der Habitus der Kolonieen auf festen Nährböden mehr Veranlassung sein, ihn in die Gattung Oidium einzureihen. Wir möchten ihn daher als Oidium moniliaforme II benennen.

Der Pilz No. 666 hat mehr wie die übrigen den Oidium-Charakter; auffällig an ihm ist hauptsächlich die farblose, feuchtglänzende, nebelige Kolonie auf Gelatine und das eigenartige Spitzenwachstum der Fäden. Auf Grund ersterer Eigentümlichkeit möchten wir ihm den Namen Oidium nubilum geben.

Auch bei dem Pilz No. 663 ist der Oidium-Charakter vorherrschend. Seine Kolonieen auf Gelatine liegen fest im Nährboden, so daß es kaum gelingt, etwas davon abzunehmen. Die wedelartigen Ausläufer sind von abgeschnürten zierlichen Konidien dicht besetzt. Die Bezeichnung Oidium gracile soll diesem Umstand Rechnung tragen.

Versuch des chemischen Nachweises der von einigen vorstehender Pilze erzeugten Riechstoffe.

Beim Verfolgen des kulturellen Verhaltens der vorstehend beschriebenen Pilze fiel, wie schon erwähnt, besonders in den Molkengelatineplattenkulturen ein intensiver knoblauchartiger Geruch auf, der

an Phosphorwasserstoff oder Arsenwasserstoff erinnerte, jedoch etwas schärfer war und vielleicht mit einem senfölartigen Geruch identifiziert werden konnte. Um den Riechstoff näher kennen zu lernen, sollte versucht werden, ihn zu gewinnen oder wenigstens durch einige Reaktionen zu charakterisieren. Nach den Angaben von Gosio (siehe Lafars Handbuch der technischen Mykologie) wird z. B. dem Penicillium brevicaule eine starke Reduktionskraft zugeschrieben, so daß er Spuren von Arsen durch die Bildung von Diäthylarsin nachzuweisen gestattet. Möglicherweise rührte der Knoblauchgeruch von geringeren Mengen Arsen her oder vielleicht wurden vorhandene phosphorsaure Salze zu PH_3 reduziert.

In einem 2 Liter-Rundkolben wurden 20 ccm peptonhaltige 1-proz. Molkengelatine mit einer 3 Tage alten stark bewachsenen Bouillonkultur geimpft; der flüssige Nährboden wurde gut durchgeschüttelt, um das Impfmaterial zu verteilen und alsdann unter der Wasserleitung an der ganzen Glaswandung, möglichst gleichmäßig verteilt, zum Erstarren gebracht. So entwickelte sich später an der gesamten Innenfläche des Rundkolbens eine üppige Pilzvegetation. Die Oeffnung des Rundkolbens war in der Art einer Spritzflasche verschlossen, um einen Luftstrom zum Heraustreiben des entwickelten Gases hindurchschicken zu können, wobei selbstverständlich der Apparat in der Weise gebraucht wurde, daß das bis zum Boden gehende Glasrohr den Luftstrom einführte, während durch das kurze Rohr der Austritt erfolgte. Um beim Durchleiten der Luft eine Infektion zu vermeiden, wurde sie vor Eintritt in den Kolben durch ein steriles Wattefilter geschickt. An der Ein- und Austrittsstelle mittels eines an kurzem Gummischlauche befestigten Quetschhahnes verschlossen, wurde das Ganze vor dem Impfen im Autoklaven sterilisiert, und zwar erst Kolben nebst Verschluß allein, darauf beides zusammen. Der mittels Aspirator erzeugte Luftstrom, wurde, nachdem er den geimpften Kolben passiert hatte, in 2 Waschflaschen in Bromwasser aufgefangen; hier sollte sich der Phosphor- resp. Arsenwasserstoff zu Arsen- resp. Phosphorsäure oxydieren.

Nach 3 Tagen, nachdem im Kolben sichtbar Wachstum eingetreten war, wurde der zuvor bereits fertig zusammengestellte Apparat in Gang gesetzt. Unter dem Luftzufluß wurde das Wachstum merklich freudiger, das Brom in den (Waschflaschen) Aufsaugeflaschen mußte mit der Zeit erneuert werden. Nach 8 Tagen — der Nährboden war mittlerweile verflüssigt — wurde der Inhalt der Bromflaschen einer Untersuchung unterworfen.

Zunächst wurde versucht, Arsen nachzuweisen, indem durch das vom letzten Rest des Bromes befreite angesäuerte Material eine Zeitlang Schwefelwasserstoff geleitet wurde, um etwaige arsenige bezw. Arsensäuren als Schwefelarsen niederzuschlagen. Der geringe Niederschlag, von unbestimmter Farbe wurde abfiltriert, durch mehrmaliges Eindampfen mit rauchender Salpetersäure oxydiert, mit Wasser aufgenommen und nach vollständiger Neutralisation mit Ammoniak mittels salpetersaurem Silber eine Fällung von arsensaurem Silber versucht.

Es bildete sich wohl ein geringer weißlicher Niederschlag, der infolge der Belichtung bald eine violette Färbung annahm, in den Marshschen Apparat gebracht, verursacht er keinen Arsenspiegel.

Im Filtrat vom Schwefelwasserstoffniederschlag war eventuell vorhandene Phosphorsäure zu suchen. Zu ihrem Nachweis wurde nach

Vertreiben des Schwefelwasserstoffes die Molybdänmethode gewählt. Es entstand ein gelber Niederschlag, welcher nach dem Abfiltrieren sich in Ammoniak löste und mit Magnesia-Mixtur einen kristallinischen weißlichen Niederschlag gab. Dieser Niederschlag wurde auf seine Eigenschaft als $MgNH_4PO_4$ weiter geprüft, indem er mittels Essigsäure gelöst, gereinigt und durch Neutralisation mit NH_3 wieder gefällt wurde.

Es entstand von neuem, allerdings in geringerer Menge ein Niederschlag, d. h. es trat eine weißliche Trübung auf, die nach längerem Stehen deutlicher und kristallinisch wurde und so Spuren von Phosphorsäure verriet.

In gleicher Weise wurde auch Organismus No. 663 der Sammlung, ein Oidium-artiger Pilz, studiert, der ebenfalls einen intensiven knoblauchartigen Geruch erzeugte.

Auch bei diesem konnte Arsen nicht nachgewiesen werden, wohl aber gelang es auch hier Spuren von Phosphorsäure festzustellen.

Man muß demnach annehmen, daß der knoblauchartige Geruch, der von den genannten Pilzen auf Molken-Pepton-Gelatine erzeugt wird, von Phosphorwasserstoff herrührt, den die Pilze aus dem Phosphor der phosphorsauren Salze bilden.

Prüfung der Pilze 663, 667 und Penicillium brevicaule auf Reduktionsvermögen bei Schwefelzusatz.

Bouillonkulturen, welche bei 30° C 24 Stunden lang angewachsen waren, wurden bei Zimmertemperatur 2 Tage lang gehalten, wobei sie kräftig wuchsen. Mit je einer dieser Kulturen wurde wieder wie bei den vorhergehenden Versuchen ein in einem großen Kolben an den Wandungen verteilter Nährboden von Molken-Pepton-Gelatine geimpft, welcher eine Messerspitze voll in Wasser sterilisierter Schwefelblumen zugesetzt worden war. Zugleich wurde ein mit Bleiacetat getränkter Papierstreifen in den den Kolben verschließenden Wattepfropf eingeklemmt und der Kolben in einen verdunkelten Raum gestellt.

Nach 5 Tagen zeigten die Papierstreifen bei den 3 verschiedenen Pilzen folgende Färbung:

Pilz 663 Papierstreifen ganz schwarz, wie verkohlt,
„ 667 „ gebräunt, wie versengt,
Penic. brevicaule unverändert.

Bei Erneuerung der Papierstreifen trat die gleiche Erscheinung ein. Der Geruch behielt späterhin nicht ganz den gleichen Charakter:

663 scharf, unbestimmt knoblauchartig bis senfölartig,
667 fast kein Geruch,
P. brevic. knoblauchartig, mehr senfölartig.

Bei einer Wiederholung des Versuchs wurde beobachtet, daß der ganze Aufbewahrungsraum von Schwefelwasserstoffgeruch erfüllt war. Eine Prüfung der einzelnen Kolben auf H_2S-Geruch zeigte, daß

663 intensiv nach H_2S,
666 weniger, jedoch sehr deutlich,
P. brevic. undeutlich nach H_2S, vielmehr scharf (undeutlich) senfölartig roch.

Nach weiteren 24 Stunden rochen
663 und 667 ziemlich gleich kräftig nach H_2S,
P. brevic. roch kaum nach H_2S, dagegen scharf senfölartig.
Nach 12 Tagen:
Geruch bei 663 kohlartig,
„ „ 667 nach H_2S,
„ „ P. brevic. senfölartig.

Die Versuche zeigen also, daß die Pilze 663 und 667 Schwefel reduzieren, Penicillium brevicaule jedoch nicht, wenn es nicht den Schwefel in anderer Weise verarbeitet.

Um die Pilze auch darauf zu prüfen, ob sie alle wie das Penicillium brevicaule Arsen reduzieren, wurde Brotbrei in Erlenmeyer-Kölbchen sterilisiert, mit Spuren von arsenigsaurem Natron versetzt und mit den Pilzen geimpft. Zum Vergleich wurden auch ein gewöhnliches Oidium lactis und einige Coli-Varietäten herangezogen.

Nach 3 Tagan stellte sich bei No. 666 und 663 ein deutlicher, bei No. 664 und 667 ein nur schwacher Knoblauchgeruch ein, an den übrigen Kulturen konnte solches nicht wahrgenommen werden. 2 Tage später war der Geruch bei No. 666 und 663 noch kräftiger, auch bei No. 664 trat er deutlicher hervor, nicht aber bei No. 667; dagegen wurde er jetzt deutlich und kräftig in der Kultur von Penicillium brevicaule, während er weder bei Oidium lactis noch bei den Coli-Bakterien vorhanden war. Gegen arsenige Säure erweisen sich alle 5 Pilze mehr oder weniger stark reduktionsfähig.

Merkwürdigerweise wird Salpeter nur von Penicillium brevecaule nicht aber von den übrigen 4 Pilzen zu salpetriger Säure reduziert.

In Lösung von Calciumlaktat, Ammoniumlaktat, Calciumphosphat, Asparagin und Harnstoff wachsen alle gut, rufen aber keine für den Geruch besonders auffällige Umänderungen hervor.

Nachdruck verboten.

Versuche über Bakterienwachstum in sterilisiertem Boden.

[Mitteilung der agrikulturchemischen Versuchsstation Berlin, Institut für Versuchswesen und Bakteriologie an der Kgl. Landwirtschaftl. Hochschule.]

Von Dr. **Hugo Fischer.**

Daß ein im strömenden Dampf oder bei Ueberdruck sterilisierter Boden das Pflanzenwachstum in eigenartiger Weise beeinflußt, ist bekannt. Eingehender wurde zuerst von L. Richter[1]) die Erscheinung verfolgt. Die Pflanzen gediehen trotz auffallender Krankheitssymptome meist üppiger als die Kontrollexemplare; im Boden ließ sich eine starke Zunahme der mit Wasser ausziehbaren organischen Substanzen nachweisen. Th. Dietrich[2]) zeigte, daß es sich dabei namentlich um Aufschließung des Bodenstickstoffs handele,

1) Ueber die Veränderungen, welche der Boden durch Sterilisieren erleidet. (Landw. Versuchsstationen. Bd. XLVII. 1896. p. 269.)

2) Versuche über den Einfluß der Bodensterilisation auf das Wachstum der in dem sterilisierten Boden wachsenden Pflanzen. (Jahresber. d. Vers.-St. Marburg 1901/2. p. 6.)

daß daneben aber Giftstoffe entstehen, die verschiedene Pflanzen in verschiedenem Grade angreifen, so daß hier die Förderung, dort die Schädigung stärker hervortritt. Diese Giftstoffe scheinen sauren Charakters zu sein, denn nach C. Schultze[1]) konnte ihre Wirkung durch eine Kalkgabe ganz oder fast ganz aufgehoben werden. Neuerdings haben A. Koch und G. Lüken[2]) selbst in leichtem Sandboden eine sehr starke Aufschließung des Stickstoffs gefunden, und unter anderem nachgewiesen, daß es sehr von den mehr oder weniger günstigen Außenbedingungen (Temperatur etc.) abhängt, ob und wie eine Pflanze jene Schädigungen überwindet.

Es war nun von Interesse zu untersuchen, wie sich Bakterien verhalten würden, die in einen im Dampftopf sterilisierten Boden ausgesät würden. Es wurde nicht mit Reinkulturen gearbeitet, da hierbei die Vergleichsobjekte gefehlt haben würden[3]), sondern es wurde der sterilisierte Boden mit einer Aufschwemmung von je 100 g des gleichen, aber unbehandelten Bodens in 500 ccm sterilisierter 0,6-proz. Kochsalzlösung beimpft; zu jeder Infektion diente gleichmäßig 1 ccm dieser Aufschwemmung.

Es wurden je 500 g lufttrockner, gesiebter Ackerboden (lehmiger Sandboden) in 4 Glasgefäße gefüllt, mit je 60 ccm destillierten Wassers befeuchtet, eine Woche lang stehen gelassen, sodann 2 derselben am 20. Febr. im Autoklaven bis auf $2\frac{1}{2}$ Atmosphären erhitzt, tags darauf in oben bezeichneter Weise wieder infiziert und alle 4 unter regelmäßiger Ergänzung des Gewichtsverlustes durch destilliertes Wasser, bei Zimmertemperatur sich selbst überlassen. Erst am 6. April, also nach 44 Tagen, wurden Aussaaten gemacht: je 50 g feuchten Bodens mit 500 ccm steriler Kochsalzlösung ausgeschüttelt, zweimal im Verhältnis 1 : 100 verdünnt, und von der letzten Verdünnung je 1 ccm in eine Petri-Schale gegeben (entsprechend dem 100000. Teil eines Grammes Boden), dazu 10 ccm eines Nähragars, der, mit wäßrigem Bodenauszug angesetzt, im Liter je 1 g Dextrose und 1 g weinsaures Ammoniak enthielt. Ein solcher Nährboden hatte sich bezüglich der Keimzahl als günstiger erwiesen, als alle sonst gebräuchlichen Substrate. Von jeder letzten Verdünnung wurden 4 Agarplatten zur Gewinnung von Durchschnittswerten angelegt.

Das Resultat der am 22. April vorgenommenen Zählung gibt Tabelle I. Um die Zuverlässigkeit und Genauigkeit des Verfahrens zu prüfen, waren von dem ersten der 4 Gefäße zwei Ausschüttelungen usw. bis zur Aussaat vorgenommen worden. Es zeigt sich ein starkes Anwachsen der Bakterienzahl, von 1 auf 5,7, dagegen ein Rückgang der Schimmel im Verhältnis von 1 : 0,21.

Eine zweite Versuchsreihe wurde mit 2 anderen Böden, einem stark sandigen Ackerboden und einem humusreichen Wiesenboden (Grünlandmoor) angesetzt, in ganz gleicher Weise, wie die erste Reihe. Es war inzwischen ein größerer Autoklav mit Manometerregulator angeschafft

---

1) Einige Beobachtungen über die Einwirkung der Bodensterilisation auf die Entwickelung der Pflanzen. (Landw. Versuchsstationen. Bd. LXV. 1906. p. 37.)

2) Ueber die Veränderung eines Sandbodens durch Sterilisation. (Journ. f. Landw. Bd. LV. 1907. p. 161.)

3) Es ist nicht oder doch nur unter ganz besonderen Schwierigkeiten möglich, von zwei oder mehr Bakterienarten gleich starke Aussaaten zu machen. Für den hier verfolgten Zweck genügte vollständig die Mischinfektion.

worden, der ein beliebig langes Verweilen auf dem eingestellten Dampfdruck gestattet; die Sterilisation erfolgte jetzt unter einem 45 Minuten lang anhaltenden Ueberdruck von $1^1/_2$ Atmosphären. Am 6. Mai geschah die Beimpfung der Gefäße mit je 1 ccm Aufschwemmung der entsprechenden Böden; eine erste Aussaat wurde am 10. Mai, eine zweite am 17. Mai, das ist nach 4 bezw. 11 Tagen vorgenommen; die Auszählung am 24. Mai bezw. 30. Mai ergab die aus Tabelle II und III zu ersehenden Resultate. Auch hier machte sich eine starke Zunahme der Bakterienzahl neben einem Rückgang der Schimmel bemerklich; der letztere im Humus weniger als im Sand. Die intensivste Vermehrung der Bakterienkeime zeigte der Sandboden zwischen dem 4. und 11. Tage.

Die lebhafte Tätigkeit der in den sterilisierten Boden gebrachten Mikroorganismen verrät sich nicht minder in einer erhöhten Kohlensäureproduktion. Um diese zu prüfen, wurde am 2. und 10. Mai in je eine Literflasche mit unterem seitlichen Tubus 1 kg sandig-lehmigen Ackerbodens (abgewogen von 1 kg lufttrockenen Bodens + 120 ccm Wasser, zuvor angesetzt und gut durchknetet) eingefüllt, bei $1^1/_2$ Atmosphären Ueberdruck 45 Minuten lang sterilisiert (entnommene Proben zeigten, daß der Boden tatsächlich lebende Keime nicht mehr enthielt) und tags darauf mit je 1 ccm Bodenaufschwemmung beimpft, nachdem der beim Sterilisieren eingetretene Gewichtsverlust durch Aqua dest. ersetzt worden war. Je eine Flasche mit nicht sterilisiertem, sonst gleichem Boden diente zum Vergleich. Es wurden täglich möglichst genau 5 l Luft durch jedes Versuchsgefäß gesogen, ein Vorgang, der stets über mehrere (nicht unter 3) Stunden ausgedehnt wurde; in der Zwischenzeit waren die Bodengefäße verschlossen. Der Luftstrom passierte eine Waschflasche mit Kalilauge, sodann die Bodenmenge von unten nach oben, darauf ein U-Rohr mit trockenem Chlorcalcium und zuletzt einen Kaliapparat mit Chlorcalciumröhrchen. Das Ergebnis der Wägungen ist in Tabelle IV niedergelegt; die Zahlen geben die täglich produzierte Kohlensäuremenge in Milligramm an. Hier wie in anderen Versuchsreihen war auch an den normalen Böden stets in den ersten Tagen ein Ansteigen der Atmungsintensität zu bemerken, ohne Zweifel eine Wirkung der durch das Durchmengen, die ausgiebige Berührung mit der Luft erzeugten Anregung des Bakterienlebens. Weit intensiver jedoch war in beiden hier zu betrachtenden Fällen das Anschwellen der Kohlensäureproduktion in den sterilisiert gewesenen Bodenproben. Das Verhältnis stellt sich im ersten Fall in 31 Tagen wie 1:2,304, im zweiten in 23 Tagen wie 1:1,822. Auffallender noch ist der Unterschied in den ersten 5 Tagen jedes Versuches: in der ersten Reihe wie 1:2,836, in der zweiten wie 1:2,067. Während der ganzen Versuchsdauer waren täglich Maximum und Minimum der Temperatur notiert worden; die Minima schwankten von 14,5°—21,5°, die Maxima von 17,5°—25,5°; ein deutlicher Zusammenhang zwischen Temperatur und Atmungsgröße war bei den relativ geringen Mengen der verfügbaren organischen Substanz nicht nachweisbar, weshalb die bezüglichen Notizen in der Tabelle nicht mit verzeichnet sind.

Die Bakterienzählungen und der Atmungsversuch zeigen übereinstimmend, daß im sterilisierten und wieder infizierten Boden ein starkes Anwachsen der Bakterientätigkeit sich geltend macht. Ein Unterschied besteht darin, daß die Zählungen noch nach längerer Zeit einen bedeutenden Ausschlag ergaben, während die Atmung nach ca. 3 Wochen

stark nachläßt und sich der der Kontrollversuche nähert; das erklärt sich wohl daraus, daß auf die Epoche einer lebhaften Vermehrung ein Zustand folgt, in dem die Bakterien *Dauerformen von geringer Atmungsintensität* angenommen haben, welche aber bei dem beschriebenen Plattenverfahren sich zu Kolonieen entwickeln.

Die hier gewonnenen Ergebnisse stimmen sehr gut überein mit denjenigen Beobachtungen, die andere Forscher an mit Schwefelkohlenstoff und anderen Giften behandelten Böden gemacht haben; so neuerdings namentlich K. *Störmer*, vergl. den *Jahresbericht für 1907 der Vereinigung für angewandte Botanik*, p. 113.

Als Ursache der starken Bakterienvermehrung dürfte weit weniger die (selbstredend auch zu beachtende) *rein chemische Aufschließung* infolge der Erhitzung, als vielmehr der Umstand anzusehen sein, daß *die in großer Zahl abgetöteten Organismen des Bodens den neu hinzugebrachten Keimen als Nahrung dienen* und so dieselben zu einer weit rascheren Vermehrung anregen, als im unbehandelten Boden möglich wäre, dessen organische Substanz zu einem großen Teil *in lebenden Körpern festgelegt ist*.

Die rasche Vermehrung aber bewirkt zweifellos ihrerseits eine entsprechende Aufschließung nicht nur organischer, sondern auch mineralischer Bodenbestandteile, welche Aufschließung wiederum ein üppigeres Wachstum der in solchen Boden gesäten Pflanzen zur Folge hat. Auffallend bleibt der Rückgang der Schimmel in den nach Sterilisation wiederbeimpften Böden; die Sterilisation erzeugt ja, wie eingangs berichtet, Produkte von saurem Charakter, von denen man annehmen sollte, daß sie gerade die Entwickelung von Schimmeln begünstigen müßten.

Tabelle I.

		Zahl der Kolonieen in 1 g Boden	Zahl der Schimmel in 1 g Boden
		44 Tage nach der Infektion	
Lehmiger Sand normal	1	20 150 000	2 350 000
	1	24 725 000	2 200 000
	2	43 000 000	3 900 000
sterilisiert gewesen	3	150 000 000	700 000
	4	184 950 000	475 000

Tabelle II.

		4 Tage nach der Infektion	
Sand	normal	16 800 000	4 850 000
	sterilis.	62 250 000	1 350 000
Humus	normal	23 000 000	5 400 000
	sterilis.	124 450 000	3 000 000
		11 Tage nach der Infektion	
Sand	normal	10 250 000	4 550 000
	sterilis.	178 050 000	2 700 000
Humus	normal	12 900 000	6 500 000
	sterilis.	87 400 000	5 800 000

Tabelle III.

	Zunahme der Bakterienzahl	Abnahme der Schimmel
Im lehmigen Sand		
nach 44 Tagen	1: 5,7	1: 0,21
Im Sandboden		
nach 4 Tagen	1: 3,7	1 : 0,28
nach 11 Tagen	1 : 17,4	1 : 0,59
Im Wiesenmoor		
nach 4 Tagen	1: 5,4	1 : 0,56
nach 11 Tagen	1: 6,8	1 : 0,89

Tabelle IV.

Tag	Erste Reihe normal mg CO_2	Erste Reihe sterilisiert mg CO_2	Zweite Reihe (8 Tage später angesetzt) normal mg CO_2	Zweite Reihe (8 Tage später angesetzt) sterilisiert mg CO_2
3.— 4. Mai	23	12		
4.— 5. „	28	74		
5.— 6. „	28	74		
6.— 7. „	19	112		
7.— 8. „	24	74		
8.— 9. „	17	39		
9.—10. „	17	39		
10.—11. „	12	45		
11.—12. „	15	39	30	84
12.—13. „	15	34	36	96
13.—14. „	17	26	39	67
14.—15. „	15	90	35	53
15.—16. „	14	43	24	39
16.—17. „	8	27	17	28
17.—18. „	10	19	16	23
18.—22. „	7	10	8	11
22.—23. „	20	36	18	34
23.—24. „	17	26	14	20
24.—25. „	17	8	13	25
25.—26. „	5	4	7	14
26.—27. „	5	4	7	14
27.—28. „	9	11	15	14
28.—29. „	12	12	10	18
29.—30. „	3	7	10	14
30.—31. „	13	11	11	28
31.— 1. Juni	9	8	10	5
1.— 2. „	9	10	7	9
Summa:	388	894	327	596

Die Spezialisation der Puccinia Hieracii.

Von **René Probst**, Bern.

Mit 3 Figuren.

Einleitung.

Gestützt auf Kulturversuche mit Kompositen-bewohnenden Puccinien und auf genaue morphologische Untersuchungen hat E. Jacky[1]) die Sammelspecies Puccinia Hieracii der älteren Autoren in eine große Anzahl guter Arten und diese wieder teilweise in biologische Arten zerlegt. Während Schröter in seiner letzten Bearbeitung der Pilze Schlesiens in „Cohns Kryptogamenflora Schlesiens" für die Puccinia Hieracii noch 54 verschiedene Arten von Nährpflanzen angibt, die sich auf 8 Gattungen verteilen, nämlich Hieracium, Chlorocrepis, Crepis, Picris, Hypochoeris, Cichorium, Leontodon und Taraxacum, war es nach E. Jackys Experimenten so ziemlich erwiesen, daß die Bezeichnung Puccinia Hieracii zu beschränken sei auf die Rostpilze, die auf Hieracium-Arten vorkommen. Aber auch innerhalb dieser Art vermutete E. Jacky, obwohl er nur wenige Versuche ausgeführt hatte, eine weitgehende Spezialisation in biologische Arten. Er konnte nämlich mit Sporenmaterial, das von Hieracium villosum (?) stammte, nur wieder diese Nährpflanze infizieren, nicht aber andere Euhieracien, Piloselloiden, Chlorocrepis und Crepis. Ebenfalls Spezialisation auf nur eine Nährpflanze ergab ein Versuch mit Infektionsmaterial, das von einem unbestimmten Hieracium herkam; der Pilz vermochte nur auf diesem nicht bestimmten Hieracium zu leben.

Auf Veranlassung meines verehrten Lehrers, Herrn Prof. Dr. Ed. Fischer, habe ich das Studium dieser Uredineengruppe, die nach den Vorversuchen von E. Jacky wohl einer eingehenden Untersuchung wert erschien, übernommen; ich bin Herrn Prof. Dr. Fischer herzlich dankbar für das nach allen Seiten interessereiche Thema, und spreche ihm auch hier meinen wärmsten Dank aus für seine vielen Anregungen und sein liebenswürdiges Entgegenkommen. Es ist jedenfalls nicht gerade eine Pflanzengruppe zum Studium der Spezialisationserscheinung so geeignet, wie die polymorphe Gattung Hieracium, in der wir neben den guten spezifischen Hauptgruppen auch zahlreiche Uebergangsformen beobachten können. Es war mir bis jetzt nur möglich, einen verhältnismäßig kleinen Teil der Arbeit zu bewältigen. Eingehendes Studium verlangen hauptsächlich noch alle die vielen Formen auf Euhieracien.

Den Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit bilden die Kulturversuche, zu denen ergänzend noch morphologische Untersuchungen treten. Das Pflanzenmaterial bezog ich als Samen aus botanischen Gärten; ferner kamen viele ausgegrabene Pflanzen zur Verwendung. Herr Karl Hermann Zahn in Karlsruhe, der Monograph der schweizerischen Hie-

1) Jacky, E., Die Kompositen-bewohnenden Puccinien etc. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. Bd. IX. 1899.)

racien, hatte die Liebenswürdigkeit, meine Versuchspflanzen zu verifizieren; ich bin ihm und Herrn Chanoine Besse in Riddes, der mir im Wallis einige günstige Hieracienexkursionsgebiete bezeichnet hat, zu großem Dank verpflichtet. Auch Herrn Obergärtner Schenk und seinen Gehilfen sei hier herzlich gedankt für die Hilfe, die sie mir bei der Pflege des großen Versuchsmaterials geleistet haben.

I. Kapitel. Infektionsversuche.

Allgemeines.

Bereits im Sommer 1906 hatte ich einige orientierende Versuche angestellt, die dann aber unterbrochen wurden. Im Herbst 1906 sammelte ich dann Teleutosporen, um mit ihnen im Frühling 1907 zu experimentieren. Diese Versuche ergaben aber sämtlich negatives Resultat, wahrscheinlich, weil die Sporen nicht mehr keimfähig waren. Sie mochten möglicherweise durch die Trockenheit des strengen Winters gelitten haben. Es blieb mir daher nichts anderes übrig, als mit Uredosporen zu arbeiten. Die Versuche gelangen fast durchweg gut, und ich hatte unter dem bei dieser Sporenform leicht auftretenden komplizierenden Faktor der Verunreinigung nicht viel zu leiden.

Da es sich bei meinen Pilzen um leicht ablösbare Sporen handelte, wurden die sporentragenden Blätter in Wasser ausgeschüttelt und dann dieses Extrakt mittels eines Zerstäubers auf die Unterseite der Blätter gebracht. Es hat diese Art und Weise des Infizierens einen großen Vorteil bei der Beurteilung der Infektion und hauptsächlich bei der Frage der verschiedenen Empfänglichkeit. Zugleich läßt sich im allgemeinen auch Fremdinfektion leichter erkennen und ausscheiden.

Die Keimungsbedingungen meiner Versuchspilze schienen am günstigsten erfüllt zu sein, wenn die bestäubten Pflanzen unter Glasglocken, die mit feuchtem Filtrierpapier ausgekleidet waren, gebracht wurden. Darunter ließ ich sie nur 3—4 Tage, da bei längerer Dauer die Pflanzen litten. Ich habe auch einige wenige trockene Versuche, d. h. ohne Glasglocke, eingeleitet; sie ergaben aber nie so reichliche Infektion, wie die nach obiger Methode ausgeführten. Nach dem Entfernen der Glasglocken wurden die Pflanzen in kleine, voneinander gut isolierte Gewächshäuschen gebracht, und zwar selbstverständlich nur gleichnamige Versuche in ein und dieselbe Zelle. Die Pflanzen hielten sich dort sehr gut, und ungewollte Infektionen waren ohne direkte Uebertragung ausgeschlossen.

Wie schon erwähnt, hat Herr Zahn den größten Teil der Versuchspflanzen verifiziert. Hinter alle diese Exemplare setze ich in den Versuchen ein | Z. Den Rest der Pflanzen, den ich Herrn Zahn nicht einsenden konnte, weil die Exemplare mir vorzeitig zugrunde gegangen sind, habe ich selbst verifiziert und glaube im allgemeinen richtige Bestimmung annehmen zu dürfen.

Zuerst soll die Spezialisation der Pilze auf Arten der Untergattung Pilosella Tausch und dann diejenige auf Arten der Untergattung Euhieracium besprochen werden.

A. Puccinia Hieracii auf Arten der Untergattung Pilosella Tausch.

Von dieser Untergattung standen mir folgende infizierten Arten zur Verfügung:

Hieracium Hoppeanum Schult. ssp. Hoppeanum N.P. δ) subnigrum N.P. | Z., aus dem Sertig und Val Tuors (Graubünden).
„ Peleterianum Mérat, ssp. Peleterianum N.P. α) genuinum β) setosum | Z., von Pacoteires s. Alesse, Wallis.
„ „ Mérat, ssp. Peleterianum N.P. d) = α genuinum 2) pilosissimum | Z., aus dem St. Bernhardgebiet.
„ pilosella L., ssp. vulgare Tausch. α) genuinum 1) subpilosum | Z., aus dem Ostermundingengebiet bei Bern.
„ „ L., ssp. velutinum Heg. et Heer. | Z., von Pacoteires s. Alesse, Wallis.
„ auricula Lam. et DC., ssp. auricula α) genuinum N.P. 1) epilosum | Z., aus dem Ostermundingengebiet und Bolligen bei Bern.
„ florentinum All., ssp. obscurum Rhb. | Z., von der Hunzikerau bei Rubigen (Kt. Bern).
„ Zizianum Tausch, ssp. Zizianum (Tausch) N.P. | Z., aus dem Ostermundingengebiet bei Bern.

Puccinia Hieracii (Schum.) Mart., stammend von Hieracium Hoppeanum.

Das Versuchsmaterial stammte von zwei verschiedenen Standorten, einerseits vom Sertig bei Davos, andererseits vom Val Tuors bei Bergün (Graubünden).

I. Infektionsversuch mit Puccinia Hieracii (Schum.) Mart., stammend von Hieracium Hoppeanum, ssp. Hoppeanum.

Auf einer Exkursion am 27. Aug. 1907 fand ich beim Wasserfall hinter Sertigdörfli bei Davos infizierte H. Hoppeanum. Am 30. Aug. bestäubte ich mit den Uredosporen folgende Pflanzen:

1. Hieracium Hoppeanum | Z., ausgegraben im Sertig am 27. Aug.
2. „ Peleterianum | Z., ausgegraben bei Pacoteires s. Alesse am 22. Aug.
3. „ pilosella ssp. vulgare | Z., von Ostermundingen bei Bern. Wurde schon bei Versuch 19 verwendet.
4. „ „ ssp. velutinum | Z., Sämling aus Göttingen, bot. Garten.
5. „ tardans, Sämling aus Genf, bot. Garten.
6. „ rubrum, „ „ Bern, „ „
7. „ auricula ssp. auricula | Z., ausgegraben bei Bolligen bei Bern.
8. „ aurantiacum, Sämling aus bot. Garten Zürich.
9. „ Bauhini | Z., „ „ „ „ Hamburg.
10. „ glaucum, „ „ „ „ Göttingen.
11. „ silvaticum, „ „ „ „ Antwerpen.

Am 7. Sept. wurden die Keimungen kontrolliert; ich konnte nur zwei beobachten. Die Versuchskontrolle ergab folgendes:

Hieracium Hoppeanum I 1. Am 18. September zeigen sich auf einigen Blättern die ersten, eben aufgebrochenen Sporenlager. 2 Tage später ist die Infektion reichlicher geworden. Am 27. Sept. ist I 1 gleichmäßig mit Sporenlagern übersät. Hieracium Peleterianum, pilosella ssp. vulgare, pilosella ssp. velutinum, rubrum, auricula, aurantiacum, Bauhini, glaucum und murorum blieben gesund. Die peinlichste Durchsicht und mikroskopische Prüfung ergaben sie als

pilzfrei. Hieracium tardans war vorzeitig zugrunde gegangen. Die Kontrollpflanzen waren ebenfalls pilzfrei.

Die auf Hieracium Hoppeanum auftretende Form wäre demnach nur befähigt, auf dieser Nährpflanze zu leben, nicht aber auf den anderen aufgeführten Arten. Der folgende Infektionsversuch bestätigt dieses Resultat.

II. Infektionsversuch mit Puccinia Hieracii (Schum.) Mart., stammend von Hieracium Hoppeanum.

Auf derselben Exkursion fand ich am nächsten Tage, am 28. Aug., reichlich Uredosporenmaterial bei Piz Kesch im Val Tuors, Graubünden, wiederum auf H. Hoppeanum. Der Versuch wurde am 30. Aug. eingeleitet und folgende Versuchspflanzen verwendet:

1. Hieracium Hoppeanum | Z., ausgegraben bei Piz Kesch am 28. Aug.
2. „ „ | Z., „ im Sertig am 27. Aug.
3. „ Peleterianum | Z., „ bei Pacoteires am 22. Aug.
4. „ rubrum, Sämling aus bot. Garten Bern.
5. „ flagellare Willd | Z., Sämling aus bot. Garten Kiel.
6. „ pilosella ssp. vulgare | Z., bot. Garten Bern.
7. „ auricula, ssp. auricula | Z., ausgegraben bei Bolligen.
8. „ pratense, Sämling aus Karlsruhe, bot. Garten.
9. „ florentinum | Z., ausgegraben bei der Hunzikerbrücke.
10. „ pilosella ssp. velutinum | Z., Sämling aus Göttingen, bot. Garten.
11. „ auricula? ausgegraben bei der Cantine d'Aosta auf Gr. St. Bernhard.
12. „ alpinum, Sämling aus Greifswald, bot. Garten.
13. „ vulgatum, „ „ Karlsruhe, „ „
14. „ villosum, „ „ Samen-Kontroll-Station.
15. „ hispidium „ „ Breslau, bot. Garten.
16. „ pictum | Z., „ „ Göttingen „ „
17. „ cruentum, „ „ Genf, „ „
18. „ florentinum, ssp. alethes | Z., Sämling aus Zürich, bot. Garten.

Am 7. Sept. beobachtete ich auf den Objektträgerkulturen etwa 7 Keimungen. Ergebnis der Versuchskontrolle:

Hieracium Hoppeanum II1 und II2. Am 13. Sept. treten auf zwei Blättern der zweiten Pflanze je ein Sporenlager auf. Dieselben sind klein und hellrotbraun. Am 16. Sept.: Die Sporenlager haben sich vermehrt auf H. Hoppeanum 2 und treten nun auch spärlich auf H. Hoppeanum 1 auf. 18. Sept.: Die Pflanzen sind gut erhalten, die Infektion ist reichlich und gleichmäßig auf die Blätter verteilt. 27. Sept.: Die infizierten Blätter gehen zugrunde. Die Kontrollpflanzen waren gesund.

Alle anderen beim Versuch verwendeten Hieracium-Arten blieben pilzfrei. Ziehen wir das Fazit der Reihen 1 und 2, so ergibt sich folgendes: Die auf Hieracium Hoppeanum Schult., ssp. Hoppeanum N.P. lebende Form der Puccinia Hieracii (Schum.) Mart. ist spezialisiert auf ihre Nährpflanze und vermag nicht die nächstverwandten Hieracium-Arten zu befallen. Ihr Verhalten den Zwischenformen und Bastarden gegenüber ist noch nicht geprüft. Ich unterscheide diese spezialisierte Form als nov. f. sp. Hoppeani.

Puccinia Hieracii (Schum.) Mart., stammend von Hieracium Peleterianum.

Hieracium Peleterianum ist im Wuchse dem Hieracium Hoppeanum sehr ähnlich; es hat jedoch einen ganz anderen Ver-

breitungsbezirk, indem es mehr auf den Westen beschränkt ist und in der Schweiz nur bis zum St. Gotthard geht. Ich fand diese Hieracium-Art hin und wieder befallen von der Puccinia Hieracii. Das Material, mit dem ich experimentierte, stammte einerseits von Hieracium Peleterianum, ssp. Peleterianum N.P. α) genuinum 2) pilosissimum und andererseits von H. Peleterianum Méat., ssp. Peleterianum N.P. α) genuinum 3) setosum.

III. Infektionsversuch mit Puccinia Hieracii (Schum.) Mart., stammend von H. Peleterianum, ssp. Peleterianum α) genuinum 2) pilosissimum.

Bei Rives an der Gr. St. Bernhardstraße sammelte ich am 16. Aug. 1907 infizierte Blätter und verwandte das Sporenmaterial am 21. Aug. zu einem Versuch mit folgenden Pflanzen:

1. Hieracium Peleterianum | Z., ausgegraben auf dem Gr. St. Bernhard.
2. „ „ Sämling aus Göttingen, bot. Garten.
3. „ furcatum, „ „ „ „ „
4. „ pilosella, ssp. velutinum | Z., Sämling aus Göttingen bot. Garten.
5. „ „ | Z., ausgegraben bei Ostermundingen.
6. „ auricula | Z., „ „ Bolligen.
7. „ tardans, Sämling aus Genf, bot. Garten.
8. „ florentinum, ssp. alethes | Z., Sämling aus Zürich, bot. Garten.
9. „ Bauhini | Z., Sämling aus Hamburg, bot. Garten.
10. „ Schmidtii | Z., ausgegraben auf dem Gr. St. Bernhard.

Die Sporen keimten schlecht.

Versuchsergebnis:

Hieracium Peleterianum III 1 und III 2. Am 13. Sept. trat auf III 1 ein einziges Uredolager auf. Die Versuchspflanze III 1 war in schlechtem Zustande, während der folgenden Tage verfaulten alle Blätter bis auf das infizierte, das keine neuen Sporenlager aufwies. Gesund blieb III 2.

Alle anderen Pflanzen blieben während der ganzen Dauer der Beobachtung gesund. Sie waren in gutem Zustande, ebenso auch die Kontrollpflanzen.

Die schwache Infektion erlaubte noch keinen Schluß. Nicht viel reichlicheren Erfolg ergab ein weiterer Versuch mit Sporen von derselben Pflanze, nur von anderem Standort.

IV. Infektionsversuch mit Puccinia Hieracii (Schum.) Mart., stammend von H. Peleterianum, ssp. Peleterianum α) genuinum, 2) pilosissimum.

Die infizierten Pflanzen, die ich benutzte, fand ich auf der Südseite des Gr. St. Bernhard, etwas oberhalb St. Rhémy. Am 21. Aug. bestäubte ich folgende Pflanzen mit den Uredosporen:

1. Hieracium Peleterianum | Z., ausgegraben oberhalb St. Rhémy.
2. „ „ Sämling aus Göttingen, bot. Garten.
3. „ pilosella ssp. vulgare | Z., ausgegr. b. Ostermundingen.
4. „ rubrum, Sämling aus bot. Garten Bern.
5. „ auricula | Z., ausgegraben bei Ostermundingen.
6. „ „ „ auf dem Gr. St. Bernhard.
7. „ aurantiacum | Z., Sämling aus Graz, bot. Garten.
8. „ glaucum „ „ Göttingen, „ „
9. „ villosum „ „ Zürich, Samen-Kontroll-Station.
10. „ cruentum „ „ Genf, bot. Garten.
11. „ ochroleucum | Z., „ „ „ „ „

Auch dieses Material war nur schwach keimfähig. Wahrscheinlich hatten die Sporen durch Trockenheit gelitten. Das Versuchsresultat war folgendes:

Hieracium Peleterianum IV 1 und IV 2. Am 5. Sept. brach das erste Sporenlager auf und zwar auf IV 1. 9. Sept.: Es waren zwei weitere Sporenlager zu beobachten auf dem bereits infizierten Blatt. 10. Sept.: IV 1 starb ab, die Blätter sind verfault und durch Schneckenfraß zerstört. Die Pflanze IV 2 ist gesund.

Auch die Kontrollpflanzen waren pilzfrei.

Alle anderen Pflanzen blieben gesund. Die letzte Durchsicht geschah am 13. Sept., ohne ein anderes Resultat zu finden.

Der Erfolg dieser beiden besprochenen Versuche war derart, daß zur völligen Klärung noch ein Versuch notwendig war. Das Material holte ich mir von Pacoteires s. Alesse (Wallis), das ein ausgezeichnetes Hieracium-Gebiet ist.

V. Infektionsversuch mit Puccinia Hieracii (Schum.) Mart., stammend von Hieracium Peleterianum, ssp. Peleterianum α) genuinum 3) setosum.

Gesammelt wurden die Pflanzen am 22. Aug. 2 Tage später bestäubte ich folgende Versuchspflanzen mit den Uredosporen:

1. Hieracium Peleterianum | Z., ausgegraben bei Pacoteires s. Alesse (Wallis).
2. „ „ | Z., „ bei St. Rhémy, Gr. St. Bernhard.
3. „ „ Sämling aus Göttingen, bot. Garten.
4. „ pilosella | Z., ausgegraben bei Ostermundingen.
5. „ „ „ „ Pacoteires s. Alesse (Wallis).
6. „ „ ssp. velutinum | Z., Sämling aus Göttingen, bot. Garten.
7. „ tardans, Sämling aus Genf, bot. Garten.
8. „ auricula | Z., ausgegraben bei Ostermundingen.
9. „ flagellare | Z., Sämling aus Kiel, bot. Garten.
10. „ pratense, „ „ Karlsruhe, bot. Garten.
11. „ florentinum, ssp. alethes | Z., Sämling aus Zürich, bot. Garten
12. „ Bauhini | Z., „ „ Hamburg, „ „
13. „ glaucum | Z., „ „ Marburg, „ „
14. „ alpinum, „ „ Greifswald, „ „
15. „ villosum, „ „ Karlsruhe, „ „
16. „ villosiceps, „ „ Genf, „ „
17. „ pseudobupleuroides | Z., „ „ Heidelberg, „ „
18. „ silvaticum ssp. prasiphaeum | Z., „ „ Zürich, „ „
19. „ amplexicaule, „ „ Berlin, „ „
20. „ pictum | Z., „ „ Göttingen, „ „

Ergebnis der Versuchskontrolle:

Hieracium Peleterianum V 1, V 2 und V 3. Die ersten Sporenlager traten am 9. Sept. auf. Ich zählte 13 kleine Lager auf einem Blatt von V 1, ferner waren zwei weitere Blätter infiziert. V 2 zeigt auch spärliche Infektion. 11. Sept.: Ein weiteres Blatt von V 1 läßt 6 frische Sporenlager erkennen. Zugleich zeigen die Blätter punktförmige Verfärbungen, die auf Infektion schließen lassen. 13. Sept.: Fast alle Blätter der Versuchspflanze V 1 sind pilzbefallen. Die Uredolager bedecken gleichmäßig die Blattspreite. Viel weniger stark infiziert war V 2, gesund aber V 3. Am 18. Sept. wurden die Kontrollpflanzen vom St. Bernhard und von Pacoteires nachgeschaut. Sie erwiesen sich als pilzfrei. Die am gleichen Tage unternommene Generalrevision des Versuches ergab: Infiziert sind V 1 und V 2, ersteres stark, letzteres schwach, gesund ist V 3.

Was die anderen Versuchspflanzen anbetrifft, so waren sie bei allen Revisionen als pilzfrei befunden worden. Vorzeitig zugrunde gegangen ist H. tardans. Auch die Kontrollpflanzen waren pilzfrei geblieben.

Aus den drei Reihen III, IV und V läßt sich folgendes Fazit ziehen: Die auf Hieracium Peleterianum lebende Puccinia Hieracii vermochte nur wiederum Hieracium Peleterianum erfolgreich zu infizieren, nicht aber: H. pilosella, ssp. vulgare, pilosella, ssp. velutinum, rubrum, flagellare, furcatum, auricula, pratense aurantiacum, florentinum, Bauhini, glaucum, alpinum, villosum, villosiceps, silvaticum, pseudobupleuroides, ochroleucum, amplexicaule, cruentum, pictum, Schmidtii und ferner H. Peleterianum aus Göttingen.

Was es mit dieser letzteren Samenpflanze für eine Bewandtnis hat, läßt sich nicht einwandfrei entscheiden. Vielleicht gibt die schwächere Infektion bei der Pflanze vom St. Bernhard einiges Licht. Aus der Bestimmung des Herrn Zahn ging nämlich hervor, daß die Pflanzen vom St. Bernhard und von Pacoteires morphologisch nicht völlig gleichwertig sind, obwohl die Unterschiede nicht groß sind. Daß die Spezialisation des Pilzes sich auf die Unterarten, ja sogar auf Rassen der Pflanzen erstrecken kann, werde ich bei den später zu behandelnden Formen dartun. Deshalb wäre ich geneigt, anzunehmen, daß der Pilz auf dem Hieracium Peleterianum von Pacoteires so weit spezialisiert ist, daß er kräftig nur noch dieselbe Unterart zu infizieren vermag, ihm aber das Infektionsvermögen für andere Unterarten mehr oder weniger verloren gegangen ist. Es könnte sich dann also bei jener Samenpflanze aus Göttingen um eine Subspecies handeln, die der Pilz nicht mehr zu befallen vermag. Leider kam die Pflanze nicht zum Blühen, so daß eine nähere Bestimmung nicht möglich ist.

Die Form der Puccinia Hieracii, die auf Hieracium Peleterianum lebt, unterscheidet sich biologisch von der bereits behandelten auf H. Hoppeanum und den noch zu besprechenden. Ich trenne sie als selbständige biologische Art ab und nenne sie nov. f. sp. Peleteriani.

Puccinia Hieracii (Schum.) Mart., stammend von Hieracium pilosella L.

Nahe bei den Ostermundingen Steinbrüchen bei Bern entdeckte ich zufällig eine kleine Waldlichtung seitlich eines Waldweges (im Plan Fig. 1 links unten), wo ich dicht beieinander infiziert fand: H. silvaticum, H. pilosella und H. auricula. Die Lichtung bietet ein interessantes biologisches Vorkommen der Puccinia Hieracii, weshalb ich sie näher beschreiben will. Sie ist sanft geneigt, von der Sonne gewöhnlich nur bis zur Hälfte beschienen. Ihr Zugang liegt gegen Süden. Der Flächeninhalt mag etwa 25 qm betragen. Die obere, trockene, sonnige Hälfte, die aus sandigem Boden besteht, ist dicht überwachsen mit Hieracium pilosella, gemischt mit Hieracium auricula. An der westlichen Seite der Lichtung hat sich niedriges Gestrüpp von Populus tremula angesiedelt. Die untere, schattige Hälfte ist feucht, mit Moospolstern bedeckt, zu denen sich ziemlich ausgedehnte Bestände von Hieracium silvaticum gesellen. Der beigefügte Plan Fig. 1 gibt ein Bild der Infektionsverhältnisse, wie sie im Frühjahr 1907 herrschten. Ueber den Sommer hat sich selbstverständlich das Bild geändert, aller-

dings nicht wesentlich, wie ich im Herbst 1907 konstatieren konnte. Die Waldlichtung scheint gegen Wind ziemlich geschützt zu sein.

Geht man nun bis ans Ende des Waldweges, so steht man am Fuße eines kleinen Sandhügels, auf dem sich reichlich Hieracium Zizianum ssp. Zizianum angesiedelt hat. Auch dieses ist infiziert, dagegen sind alle in nächster Umgebung wachsenden Piloselloiden, d. h. Hieracium pilosella und Hieracium auricula gesund, nur Hieracium silvaticum ist pilzbefallen. Die eben besprochene Waldlichtung, von der eventuell eine Verschleppung von Sporen herrühren könnte, ist vom Standort des Hieracium Zizianum durch einen ca. 5 m hohen Sandhügel getrennt, auf dem sich dichter Kiefernbestand angesiedelt hat.

Auf der Höhe der Steinbrüche, in der Nähe der Fahrstraße (im Plan rechts oben) vielleicht 100 Schritte vom Hieracium Zizianum-Bestand entfernt, ist wieder eine Waldlichtung, größer als die untere, mit trockenem, sandigem Boden, den wieder Hieracium pilosella-Rasen überkleidet. Dieses Hieracium pilosella ist stellenweise infiziert.

Diese höchst interessanten Verbreitungserscheinungen der Puccinia Hieracii drängten mir verschiedene Fragen auf:

1) Wie verhalten sich die drei Formen der unteren Waldlichtung zueinander? Sind sie spezialisierte Arten oder gehören sie einer und derselben Form an?

2) Ist der Pilz auf Hieracium Zizianum identisch mit irgendeiner Form der unteren Waldlichtung?

3) Ist der Pilz auf Hieracium pilosella der oberen Waldlichtung derselbe, wie der Pilz auf Hieracium pilosella der unteren Waldlichtung?

Da ich in Zukunft noch viel von den beiden Pilzen auf Hieracium pilosella sprechen werde, so will ich eine definitive Bezeichnung gleich einführen, um Verwechslungen und Unklarheit zu vermeiden. Ich verstehe unter Standort a bei Ostermundingen die untere Waldlichtung, wo Hieracium silvaticum, auricula und pilosella infiziert vorkommen. Standort b bei Ostermundingen dagegen bedeutet die obere Waldlichtung, wo stellenweise der Pilosella-Rasen auch infiziert ist.

Es soll zuerst die 3. Frage geprüft werden.

VI. Infektionsversuch mit Puccinia Hieracii (Schum.) Mart., stammend von Hieracium pilosella, ssp. vulgare α) genuinum 1) subpilosum vom Standort a.

Das Uredomaterial holte ich am 18. Juni vom Standort a. Tags darauf wurden folgende Pflanzen bestäubt:

1. Hieracium pilosella | Z., in der Nähe des Standortes a ausgegraben.
2. „ „ | Z., schon einige Zeit in Kultur, ausgegraben, in der Nähe des Standortes a.
3. „ „ ssp. velutinum | Z., Sämling aus Göttingen, bot. Garten.
4. „ Peleterianum | Z., Sämling aus Göttingen, bot. Garten.
5. „ auricula | Z., in der Nähe des Standortes a ausgegraben.
6. „ „ | Z., schon längere Zeit in Kultur.
7. „ „ | Z., Sämling aus München, bot. Garten.
8. „ Zizianum | Z., auf dem Ostermundingenberg ausgegraben, gesund.
9. „ glaucum | Z., Sämling aus Marburg, bot. Garten.
10. „ villosum, „ „ Göttingen, „ „
11. „ alpinum, „ „ München, „ „
12. „ silvaticum | Z., ausgegraben bei Ostermundingen.
13. „ ochroleucum | Z., Sämling aus Göttingen, bot. Garten.
14. „ pictum | Z., „ „ „ „ „
15. „ sabaudum | Z., „ „ Zürich, „ „

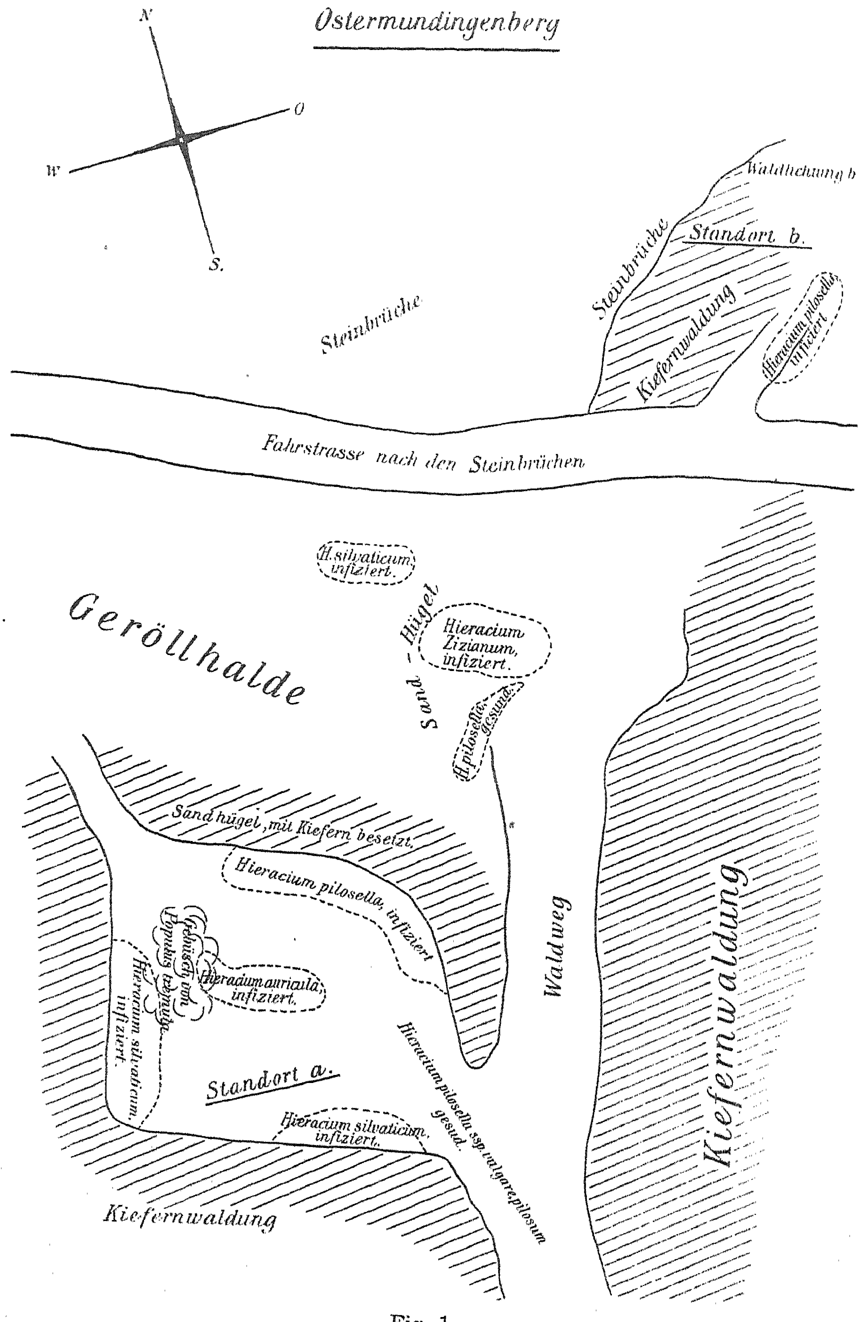


Fig. 1.

Das Ergebnis dieser Versuchsreihe war folgendes:

Hieracium pilosella VI 1 und VI 2. Am 29. Juli waren die Pflanzen in sehr gut erhaltenem Zustande; sie zeigten auf ihren Blättern bereits helle, punktförmige Flecken, die auf Infektion schließen ließen.

Am 1. Juli brachen die ersten Sporenlager auf. In den folgenden Tagen öffneten sich immer mehr Sporenlager, bis am 16. Juli, bei der letzten Kontrolle, sämtliche Blätter über und über mit Uredolagern bedeckt waren.

Gesund blieben während der ganzen Dauer der Beobachtung alle übrigen Versuchspflanzen, speziell auch alle Kontrollpflanzen von H. pilosella.

Ich verwendete das außerordentlich reiche Sporenmaterial zu einem ferneren Versuch.

VII. Infektionsversuch mit Puccinia Hieracii (Schum.) Mart., stammend von Hieracium pilosella, ssp. vulgare α) genuinum 1) subpilosum vom Standort a.

Der Versuch wurde am 16. Juli angesetzt. Als Pflanzen kamen zur Verwendung:

1. Hieracium pilosella | Z., schon längere Zeit in Kultur, bei Ostermundingen ausgegraben, Nähe des Standortes a.
2. „ „ | Z., schon längere Zeit in Kultur, bei Ostermundingen ausgegraben, Nähe des Standortes a.
3. „ „ | Z., ssp. velutinum, Sämling aus Göttingen, bot. Garten.
4. „ Peleterianum, Sämling aus Göttingen, Versuch 6.
5. „ tardans, „ „ Genf, bot. Garten.
6. „ rubrum, „ „ Bern, „ „
7. „ auricula | Z., schon längere Zeit in Kultur, b. Ostermundingen ausgegr,
8. „ aurantiacum | Z., Sämling aus Zürich, bot. Garten.
9. „ florentinum, ssp. alethes | Z., Sämling aus Zürich, bot. Garten.
10. „ silvaticum | Z., schon einige Zeit in Kultur, b. Bolligen ausgegraben.

Die Objektträgeraussaaten ergaben zahlreiche Keimungen; die Sporen lagen außerordentlich dicht gesät. Das Versuchsprotokoll ergab folgende Beobachtungen:

Hieracium pilosella VII 1 und VII 2. Die Inkubationszeit war außerordentlich gering. Denn schon am 26. Juli zeigte sich ein schwacher Erfolg von Infektion. Weitere Notizen rühren her vom 29. Juli, 2. August und endlich vom 22. August. Sukzessive wiesen die Pflanzen immer reichlicher Sporenlager auf. Bei der Schlußbeobachtung waren sie außerordentlich stark pilzbefallen und zeigten kaum mehr einen pilzfreien Blattfleck.

Alle Kontrollpflanzen von H. pilosella ssp. vulgare blieben gesund.

Pilzfrei blieben alle anderen Versuchspflanzen.

Resultat der Reihen 6 und 7. Der Erfolg der Infektion war in beiden Reihen sehr prompt und außerordentlich kräftig, dabei blieb er beschränkt auf Hieracium pilosella, ssp. vulgare α) genuinum 1) subpilosum. Keine Infektion zeigten die folgenden Arten: Hieracium Peleterianum, pilosella, ssp. velutinum, auricula, tardans, rubrum, aurantiacum, florentinum ssp. alethes, Zizianum, glaucum, villosum, alpinum, silvaticum, ochroleucum, pictum und sabaudum. Es ist dabei von Interesse, wahrzunehmen, daß auch die nächsten Verwandten des Hieracium pilosella vom Pilz nicht befallen werden, ebenso wie der Bastard Hieracium rubrum, entstanden aus H. pilosella und H. aurantiacum.

Durch dieses Verhalten des Pilzes auf Hieracium pilosella werden uns bereits indirekt die Fragen 1 und 2 beantwortet, die wir uns zu Anfang der Infektionsversuche gestellt haben; denn die Versuche zeigen ja, daß der Pilz nicht zu infizieren vermag H. auricula, H.

Zizianum und H. silvaticum, folglich also sehr wahrscheinlich mit den Formen der Puccinia Hieracii, die auf diesen Nährpflanzen vorkommt, nicht zu identifizieren ist. Die späteren Versuche mit diesen besagten Formen werden die Fragen in diesem Sinne entscheiden.

Nicht wenig war ich nun erstaunt über die Resultate, die ich bei den Experimenten mit dem Pilz vom Standort b konstatierte.

VIII. Infektionsversuch mit Puccinia Hieracii, stammend von Hieracium pilosella vom Standort b.

Das Sporenmaterial war etwas kärglich. Am 2. Juli bestäubte ch folgende Versuchspflanzen:

1. Hieracium pilosella | Z., schon längere Zeit in Kultur, ausgegraben bei Ostermundingen, Nähe des Standortes a.
2. „ „ | Z., ausgegraben vom Standort a.
3. „ „ | Z., ssp. velutinum, Sämling aus Göttingen, bot. Garten.
4. „ Peleterianum, Sämling aus Göttingen, bot. Garten.
5. „ tardans, „ „ Genf, „ „
6. „ rubrum, „ „ Bern, „ „
7. „ stoloniflorum, „ „ Genf, „ „
8. „ auricula | Z., ausgegraben bei Ostermundingen.
9. „ Bauhini | Z., Sämling aus Hamburg, bot. Garten.
10. „ silvaticum | Z., ausgegraben bei Ostermundingen.
11. „ „ | Z., „ „ „
12. „ balcanum, Sämling aus Breslau, bot. Garten.

Zahlreiche Keimungen wiesen die Objektträgerkulturen am 10. Juli auf. Als Versuchsresultat notierte ich folgendes:

Hieracium pilosella VIII 1 und VIII 2. 15. Juli: 2 Blätter von VIII 1 scheinen pilzbefallen zu sein. 18. Juli: Die Vermutung bestätigt sich nicht, beide Pflanzen sind gesund. 22. Juli: Keine Infektion zu konstatieren. 29. Juli: Die letzte Kontrolle ergibt dasselbe Resultat. VIII 1 und VIII 2 sind pilzfrei.

Hieracium tardans VIII 5. Am 15. Juli treten auf 2 Blättern je ein Uredolager auf. 18. Juli: Die Infektion ist stärker geworden, allerdings sind nur spärlich Lager zu zählen. 22. Juli: Der Höhepunkt der Infektion ist erreicht: Die 2 anfänglich schon infizierten Blätter zeigen noch einige eben aufgebrochene Uredolager. 29. Juli: Die älteren Blätter, dazu auch die pilzbefallenen, sind eingegangen, die jungen Blätter sind gesund.

Hieracium rubrum VIII 6. 15. Juli: Noch gesund, dito am 19. Juli. Am 22. Juli ist ein einziges Sporenlager zu konstatieren. Die Pflanze geht zugrunde.

Pilzfrei blieben Hieracium Peleterianum, stoloniflorum, auricula, Bauhini, silvaticum und balcanum.

So schwach auch die Infektion ausgefallen ist, so zeigt sie doch eines: Der Pilz vom Standort b ist nicht derselbe wie der vom Standort a. Weitere Schlüsse lassen sich aber erst aus einem besseren Infektionsergebnis ziehen.

IX. Infektionsversuch mit Puccinia Hieracii, stammend von Hieracium pilosella vom Standort b.

Diesmal verfügte ich über mehr Infektionsmaterial als beim Versuch 8. Zu Versuchspflanzen wählte ich folgende:

1. Hieracium pilosella | Z., verwendet bei Versuch 8: VIII 1.
2. „ „ | Z., schon längere Zeit in Kultur, bei Ostermundingen ausgegraben, in der Nähe des Standortes a.
3. „ „ | Z., vom Standort b ausgegraben.
4. „ „ | Z., ssp. velutinum, Sämling aus Göttingen, bot. Garten.
5. „ rubrum, Sämling aus Bern, bot. Garten.
6. „ stoloniflorum, Sämling aus Genf, bot. Garten.
7. „ tardans, Sämling aus Genf, bot. Garten.
8. „ furcatum, „ „ Göttingen, „ „
9. „ pratense, „ „ Karlsruhe, „ „
10. „ Bauhini, | Z., „ „ Hamburg, „ „
11. „ auricula | Z., schon längere Zeit in Kultur, ausgegraben bei Ostermundingen bei Bern.
12. „ silvaticum | Z., schon längere Zeit in Kultur, ausgegraben bei Bolligen bei Bern.
13. „ „ | Z., ausgegraben vom Standort b.

Bestäubt wurden die Pflanzen am 10. August.

Resultat der Versuchsbeobachtung:

Hieracium pilosella IX 1, IX 2 und IX 3. Bereits am 20. August, also 10 Tage nach Ansetzen der Reihe, war IX 3 stark infiziert. Gesund sind IX 1 und IX 2. 24. August: IX 3 hatte fast auf allen Blättern Uredolager. IX 1 besaß auch auf einem Blatt ein Sporenlager. 29. August: Auf IX 1 fand ich jetzt 3 Sporenlager, auf IX 2 ein einziges. IX 3 war über und über besät mit Sporenlagern. Als ich am gleichen Tage die Kontrollpflanzen von IX 3 nachschaute, konstatierte ich, daß sie auch infiziert waren, allerdings bedeutend schwächer, als das beim Versuch verwendete Exemplar. Wenn also bei diesem ein Teil der Infektion als Standortsinfektion anzusehen ist, so ließ sich doch der größte Teil ganz unzweideutig auf Infektion durch den Versuch zurückführen.

Bei später vorgenommenen Revisionen hatte sich das Ergebnis nur in dem Sinn geändert, daß viele pilzbefallene Blätter inzwischen verfault waren. IX 1 und IX 2 infizierten sich nicht stärker.

Hieracium tardans IX 7. 20. August: 4 Blätter ließen aufgebrochene Uredolager erkennen, die anderen Blätter deutliche Spuren von Infektion. Vier Tage später sind alle Sporenlager aufgebrochen, die Pflanze ist stark infiziert. 29. August: Gleiches Resultat wie am 24. August.

Hieracium furcatum IX 8. 20. August: Viele Uredolager bedecken die Blätter. 24. August: Die Infektion hat den Höhepunkt erreicht, sie hat alle Blätter ergriffen. 29. August: Die Pflanze welkt.

Hieracium rubrum IX 5. Bei der ersten Kontrolle am 20. August war die Pflanze noch gesund. Vier Tage darauf zählte ich auf einem Blatt 14 eben aufgebrochene Sporenlager. Am 29. August war IX 5 mindestens ebenso stark infiziert wie H. furcatum und H. pilosella IX 3.

Von Infektion frei blieben H. stoloniflorum, pratense, Bauhini, auricula, silvaticum, pilosella ssp. velutinum.

Die Kontrollpflanzen von IX 1 und IX 2 waren pilzfrei.

Was Versuchsreihe VIII angedeutet hat, ist durch die Reihe IX bestätigt. Diesmal war die Infektion so prompt und stark, daß über die Diskutierbarkeit dieser Reihe kein Zweifel vorhanden sein kann. Wie stehen nun die Pilzformen auf den beiden Hieracium pilosella zueinander? Die Form vom Standort a war vollständig auf ihre Standortsnährpflanze spezialisiert. Des ferneren wurde noch ein H. pilosella befallen, das ich aus der Nähe der unteren Waldlichtung bezogen hatte,

von einem Standort, wo alle Pflanzen gesund waren. Der Pilz befiel aber nicht H. tardans und H. rubrum, die ich beide in Versuch VII verwendet habe. Ganz anders verhält sich der Pilz auf H. pilosella vom Standort b. Er vermochte noch zu infizieren H. rubrum, tardans und furcatum. Die vier Sporenlager, die insgesamt auf den beiden anderen H. pilosella vorkamen, glaube ich auf Fremdinfektion zurückführen zu müssen. Denn es war zu gleicher Zeit der Versuch VII im Gange, der außerordentlich kräftige Infektion gebracht hatte, und da war eine Verschleppung der Sporen wohl möglich, vielleicht bei einer Versuchskontrolle oder durch den Gärtner beim Begießen der Pflanzen. Währenddem also der eine Pilz univor ist, vermag der zweite noch eine Anzahl andere Hieracium-Arten zu befallen. Ich suchte die Lösung dieses merkwürdigen Verhalten zuerst darin, daß ich vermutete, ich hätte es mit zwei verschiedenen H. pilosella Subspecies zu tun. Die Bestimmung durch Herrn Zahn ergab aber, daß alle zur Verwendung gekommenen H. pilosella morphologisch voneinander nicht zu unterscheiden waren. Die Nährpflanzen konnten also höchstens biologisch verschieden sein. Daß dies in der Tat der Fall sein muß, lehrt der folgende Versuch:

X. Infektionsversuch mit Puccinia Hieracii (Schum.) Mart., stammend vom Hieracium pilosella von Standort a.

Dieser Pilz produziert außerordentlich lange Uredosporen. So konnte ich am 30. September noch genügend Uredomaterial sammeln, um folgenden Versuch einzuleiten:

1. Hieracium pilosella, ssp. vulgare α) genuinum 1) subpilosum | Z., verwendet bei Versuch 8 und 9 vom Standort a.
2. „ „ ssp. vulgare α) genuinum 1) subpilosum | Z., aus dem bot. Garten, Bern.
3. „ „ ssp. vulgare α) genuinum 1) subpilosum | Z., vom Standort b, schon längere Zeit in Kultur.
4. „ rubrum, Sämling aus Bern, bot. Garten.
5. „ furcatum, „ „ Göttingen, „ „
6. „ Peleterianum | Z., ausgegraben bei Pacoteires s. Alesse.
7. „ Hoppeanum | Z., ausgegraben im Sertig.

Die erste Beobachtung konnte erst am 23. Okt. gemacht werden, da ich in der Zwischenzeit von Bern abwesend war. Die Pflanzen waren sehr gut erhalten und zeigten folgendes Verhalten gegenüber dem Pilz:

Hieracium pilosella vom Standort a X 1. Alle älteren Blätter waren über und über mit Sporenlagern bedeckt. Die jüngeren, erst nach der Infektion angelegten, waren gesund. Dabei sei noch bemerkt, daß die Pflanze zur Zeit der Versuchseinleitung als gesund befunden wurde, also offenbar die beim Versuch 9 konstatierte Fremdinfektion nicht mehr nachzuweisen war. Die Kontrollexemplare erwiesen sich als pilzfrei.

Vom Pilze nicht befallen wurden dagegen:

H. pilosella X 2, pilosella X 3 vom Standort b, rubrum X 4, furcatum X 5, Peleterianum X 6 und Hoppeanum X 7. Sie waren alle vollständig pilzfrei.

Obwohl in diesem Versuch drei H. pilosella, ssp. vulgare, α) genuinum, 1) subpilosum, zur Verwendung kamen, wurde doch nur eines vom Pilze befallen, und zwar, wie man erwarten konnte, dasjenige vom Standort a. Die beiden anderen werden sich wahrscheinlich von

diesem nur biologisch unterscheiden, der Pilz ist aber so weit an seine Nährpflanze angepaßt, daß er ausschließlich nur diese zu befallen vermag. Es soll im allgemeinen Teil diese Tatsache noch weiter diskutiert werden.

Wir haben uns eingangs ferner gefragt, in welchen Beziehungen diese Pilosella-Pilze zur Puccinia Hieracii auf dem Hieracium Zizianum stehen und diese Frage für die Form vom Standort a bereits entschieden. Durch seinen plurivoren Charakter wäre es nun eher denkbar, der Pilz vom Standort b und derjenige auf H. Zizianum könnten identisch sein. Obwohl ich in den Versuchen VIII und IX das H. Zizianum nicht eingeschlossen hatte, ist zur Verneinung dieser Vermutung ausschlaggebend das Verhalten gegenüber H. pratense und H. Bauhini, die beide vom Pilz auf H. Zizianum infiziert werden, in den Versuchen VIII und IX dagegen pilzfrei ausgingen.

Es liegen mir demnach in diesen beiden Pilzformen auf Hieracium pilosella zwei biologische Arten vor, wovon die eine bedeutend stärker spezialisiert ist, als die andere. Ich bezeichne sie vorläufig zur Unterscheidung als f. sp. Pilosellae a und f. sp. Pilosellae b.

Als weiterer Vertreter der Puccinia Hieracii aus dem Formenkreis des Hieracium pilosella stand mir Uredomaterial zur Verfügung, das ich von einer Exkursion nach Pacoteires mitbrachte. Ich fand daselbst unter gesundem Hieracium Peleterianum-Rasen ziemlich stark infizierte Exemplare von Hieracium pilosella ssp. velutinum Hg. et Heer. Die Versuchsreihe wurde am 25. Aug. angesetzt. Als Versuchspflanzen kamen zur Verwendung:

XI. Infektionsversuch mit Puccinia Hieracii, stammend von Hieracium pilosella ssp. velutinum.

1. Hieracium pilosella, ssp. velutinum | Z. Sämling aus Göttingen, bot. Garten.
2. „ „ „ „ ausgegraben in der Nähe des Standortes des Pilzes.
3. „ „ „ vulgare | Z., schon längere Zeit in Kultur, ausgegraben bei Ostermundingen.
4. „ „ ausgegraben bei Pacoteires.
5. „ Peleterianum | Z., ausgegraben auf dem Gr. St. Bernhard.
6. „ „ | Z., „ bei Pacoteires.
7. „ „ Sämling aus Göttingen, bot. Garten.
8. „ tardans „ „ Genf „ „
9. „ rubrum „ „ Bern „ „
10. „ auricula Z., ausgegraben bei Bolligen.
11. „ aurantiacum | Z., Sämling aus Graz.
12. „ furcatum „ „ Göttingen, bot. Garten.
13. „ florentinum, ssp. alethes | Z. „ „ Zürich „ „
14. „ Bauhini | Z. „ „ Hamburg „ „
15. „ glaucum | Z. „ „ Marburg „ „
16. „ villosum „ „ S. C. St.
17. „ vulgatum „ „ Karlsruhe „ „
18. „ pictum | Z. „ „ Göttingen „ „
19. „ collinum „ „ Genf „ „
20. „ stoloniflorum „ „ Genf „ „

Am 30. Aug. wurden die Objektträgerkulturen nachgeschaut: Ich konnte zahlreiche Keimungen konstatieren. Alle Pflanzen waren bis auf H. rubrum sehr gut erhalten. Das Versuchsergebnis war folgendes:

Hieracium pilosella, ssp. velutinum XI 1 und XI 2. 5. Sept.: Auf XI 2 brechen die ersten jungen Sporenlager auf. 2 Tage darauf hat die Infektion alle älteren Blätter ergriffen. Die jüngeren dagegen, die erst nach der Infektion zur Entfaltung kamen, waren pilz-

frei. XI 1 ist noch gesund. 9. Sept.: XI 2 ließ eine regelmäßige, reichliche Infektion erkennen, von der nur die jüngeren Blätter verschont blieben. Ferner waren auf 4 Blättern von XI 1 vereinzelte frische Sporenlager zu beobachten. 10. Sept.: An Hieracium velutinum XI 1 zählte ich 6 Blätter, die mehr oder weniger stark mit Uredolagern übersät waren, im ganzen waren es ungefähr 25 Sporenlager, klein, rotbraun, von der Epidermis bereits befreit. Daneben war noch infiziert XI 2, die Infektion hatte hier nicht mehr zugenommen. 16. Sept.: Die pilzbefallenen Blätter von XI 1 waren bis auf zwei zugrunde gegangen. Diese zwei ließen eine gleichmäßige, starke Infektion erkennen. Ebenso kräftig infiziert war immer noch XI 2. Dasselbe Resultat notierte ich bei der Durchsicht am 18. Sept.

Es erwies sich an diesem Tage aber auch ein Kontrollexemplar von H. pilosella, ssp. velutinum aus Pacoteires als krank, allerdings handelte es sich bei diesem nur um ganz wenige Uredopusteln, währenddem bei meinem Versuchsexemplar XI 2 doch fast auf jedem Blatt 10—15 Sporenlager auftraten, was bei der Kleinheit der Blätter ein recht kräftiges Befallen bedeutet, das unmöglich allein auf Standortsinfektion zurückzuführen ist. Die letzte allgemeine Revision stellte folgendes Resultat fest: Am 27. Sept. waren alle infizierten Blätter von XI 1 eingegangen, XI 2 hatte ich tags zuvor als Herbarpflanze eingelegt.

Was nun die anderen Versuchspflanzen anbelangt, so blieben sie vollkommen pilzfrei während der ganzen Dauer der Beobachtung.

Resultat: Der Versuch ist allerdings vereinzelt und bedürfte weiterer Belege. Da aber durch die wenigen bis jetzt besprochenen Versuche zweifelsohne eine außerordentlich weitgehende Spezialisation bereits bewiesen ist, scheint es mir doch sehr wahrscheinlich, daß wir es auch in diesem Falle mit einer spezialisierten Form zu tun haben, die nur auf Hieracium pilosella, ssp. velutinum zu leben vermag. Eine Stütze dieser Anschauung glaube ich auch aus dem Verhalten des Hieracium pilosella, ssp. velutinum aus Göttingen gewinnen zu können. Es gelang mir nämlich unter allen ausgeführten Versuchen nur dieses einzige Mal, die erwähnte Samenpflanze zu infizieren. Ich bezeichne diese Form der Puccinia Hieracii (Schum.) Mart. als nov. f. sp. velutini.

Puccinia Hieracii (Schum.) Mart., stammend von Hieracium auricula.

Der Standort a bei Ostermundingen, d. h. die untere Waldlichtung, war, wie schon erwähnt, auch ein Fundort der Puccinia Hieracii auf Hieracium auricula. Durch die Versuche VI, VII, VIII und IX wurde zwar schon gezeigt, daß Hieracium auricula von den beiden Pilzformen auf Hieracium pilosella nie befallen wurde, mit anderen Worten, daß auch auf dieser Nährpflanze wieder eine spezialisierte Form der Puccinia Hieracii lebt. Um zu prüfen, wie weit die Spezialisation gehe, leitete ich einige Kulturversuche ein.

XII. Infektionsversuch mit Puccinia Hieracii (Schum.) Mart., stammend von Hieracium auricula, ssp. auricula α) genuinum, 1) epilosum.

Das Infektionsmaterial hatte ich am 24. Juni bei der Waldlichtung a bei Ostermundingen bei Bern geholt. Am 25. Juni bestäubte ich damit folgende Pflanzen:

1. Hieracium auricula | Z., schon längere Zeit in Kultur, Standort a b. Ostermundg.
2. „ „ Sämling aus München, bot. Garten.
3. „ pilosella | Z. } schon längere Zeit in Kultur, von Ostermundingen.
4. „ „ | Z.
5. „ „ ssp. velutinum | Z., Sämling aus Göttingen, bot. Gart.
6. „ Peleterianum, Sämling aus Göttingen, bot. Garten.
7. „ Bauhini | Z., „ „ Hamburg, „ „
8. „ glaucum, „ „ Göttingen, „ „
9. „ villosum, „ „ S. C. St.
10. „ silvaticum | Z. } schon längere Zeit in Kultur, Ostermundingen.
11. „ „ | Z.
12. „ pictum | Z., Sämling aus Göttingen, bot. Garten.
13. „ balcanum, „ „ Breslau, „ „
14. „ sabaudum | Z., „ „ München, „ „

Am 6. Juli wurden die Pflanzen zum erstenmal revidiert; sie waren in gutem Zustande. Die Kontrolle ergab folgendes:

Hieracium auricula XII 1 und XII 2. 9. Juli: Auf XII 1 war eine Uredopustel zu beobachten. XII 2 scheint gesund zu sein. 12. Juli: Die Pusteln hatten sich vermehrt, einige davon waren bereits von der Epidermis befreit. Sie erschienen alle auf der Blattoberseite. XII 2 war gesund. 20. Juli: XII 1 war gleichmäßig und reichlich pilzbefallen, pilzfrei dagegen XII 2. Am 29. Juli fand ich als endgültiges Ergebnis: XII 1 weist, immer noch gut erkennbar, die typische, gleichmäßige Versuchsinfektion auf. Gesund ist XII 2.

Hieracium Peleterianum XII 6. 17 Tage nach der Infektion erschienen auf einzelnen Blättern Sporenlager. Am 20. Juli war eine gleichmäßige Infektion zu konstatieren. Bei der letzten Revision notierte ich als Schlußbefund: H. Peleterianum stirbt ab, die neuen Blätter, die angelegt waren, sind pilzfrei.

Vom Pilze nicht befallen wurden alle übrigen Versuchspflanzen.

Auch die Kontrollpflanzen von H. auricula waren pilzfrei.

Wenn wir das Fazit dieses Versuches ziehen, so lautet es: Auf Hieracium auricula lebt ein Pilz, eine Form der Puccinia Hieracii, die spezialisiert ist auf ihre Nährpflanze, daneben aber noch zu infizieren vermag H. Peleterianum. Es befremdet in diesem Versuch das negative Resultat auf H. auricula aus München und dann das Ueberspringen der nächsten Verwandten, nämlich der beiden H. pilosella, um dann einen positiven Erfolg auf H. Peleterianum zu erzeugen. Leider stand mir diese letztere Pflanze nicht mehr zur Verfügung, so daß ich sie in den nächsten Versuchen nicht mehr berücksichtigen konnte.

Der Vollständigkeit halber führe ich noch 2 Versuche mit dieser Sporenform an, wobei aber das Material immer wieder von einem anderen Standort gesammelt worden war.

XIII. Infektionsversuch mit Puccinia Hieracii, stammend von Hieracium auricula.

Nahe der Station Ostermundingen bei Bern entdeckte ich einen neuen Standort mit infizierten Hieracium auricula. Am 4. Juli bestäubte ich mit Sporen, die ich von dort bezogen, folgende Pflanzen:

1. Hieracium auricula | Z., schon längere Zeit in Kultur, aus Ostermundingen.
2. „ pilosella | Z., „ „ „ „ „ „ „
3. „ Zizianum | Z., „ „ „ „ „ „ „

4. Hieracium florentinum, ssp. alethes | Z., Sämling aus Zürich, bot. Garten.
5. „ alpinum, „ „ Greifswald, „ „
6. „ scorzoneraefolium, „ „ München, „ „
7. „ amplexicaule, „ „ Berlin, „ „
8. „ ochroleucum | Z., „ „ Genf, „ „
9. „ silvaticum | Z., schon längere Zeit in Kultur, aus Ostermundingen.

Am 10. Juli beobachtete ich zahlreiche keimende Uredosporen. Der Versuch wurde ohne Glasglocken eingeleitet, also trocken.

Versuchsergebnis:

Hieracium auricula XIII 1. 15. Juli: Gesund, ebenso am 20. und 22. Juli. 25. Juli: Hieracium auricula ist schwach infiziert. Erst jetzt sind die ersten Uredolager aufgebrochen. Die Infektion verstärkte sich nicht mehr während der folgenden Tage.

Pilzfrei blieben alle anderen Pflanzen.

Die lange Inkubationszeit und der schwache Erfolg sind ohne Zweifel eine Folge der Versuchsanstellung. Besseres Resultat brachte die folgende Reihe:

XIV. Infektionsversuch mit Puccinia Hieracii (Schum.) Mart., stammend von Hieracium auricula.

Auf einer Exkursion in die Steinbrüche von Bolligen bei Bern fand ich reichlich infizierte Hieracium auricula. Ich sammelte davon und leitete am 10. Juli, wieder mit Glasglocken, einen Versuch ein. Die Versuchspflanzen waren:

1. Hieracium auricula | Z., schon längere Zeit in Kultur, aus Ostermundingen.
2. „ „ | Z., bei Bolligen bei Bern ausgegraben.
3. „ pilosella | Z., in Kultur, aus Ostermundingen.
4. „ tardans, Sämling aus Genf, bot. Garten.
5. „ Zizianum | Z., in Kultur, aus Ostermundingen.
6. „ silvaticum „ „ „
7. „ cerinthoides, Sämling aus Genf, bot. Garten.
8. „ saxatile, „ „ Paris, „ „

Die Kontrollpflanzen von H. auricula aus Bolligen blieben gesund. Die Versuchsbeobachtung ergab folgendes:

Hieracium auricula XIV 1 und XIV 2. 13 Tage nach der Bestäubung wies XIV 1 zahlreiche Uredopusteln und einige schon aufgebrochene Sporenlager auf. 25. Juli: Ich konstatierte eine typische Versuchsinfektion, reichlich und gleichmäßig auf XIV 1. Gesund dagegen war XIV 2. Die folgenden Kontrollen ergaben denselben Befund. Die letzte Durchsicht geschah am 9. Aug.: XIV 1 war immer noch erkennbar infiziert, obwohl einige ältere Blätter bereits abgestorben waren. XIV 2 dagegen ist gesund geblieben.

Von der Infektion verschont blieben alle anderen Pflanzen.

Diskussion der Versuche XII, XIII und XIV. Das Sporenmaterial von den drei verschiedenen Standorten verhielt sich im wesentlichen gleich. Erscheinungen, wie sie die Puccinia Hieracii auf Hieracium pilosella zeigt, d. h. verschiedene Spezialisation der Formen von anderen Standorten, wurden hier nicht beobachtet. Alle drei Pilze schienen spezialisiert zu sein auf Hieracium auricula, wobei allerdings der Pilz vom Standort a bei Ostermundingen noch übersprang auf das systematisch ziemlich fernstehende Hieracium Peleterianum; wie die anderen beiden Formen sich zum Hieracium Pele-

terianum stellen, konnte leider nicht ermittelt werden. Auch sie verschmähten die nächsten Verwandten des Hieracium auricula, nämlich Hieracium tardans und Hieracium pilosella. Des ferneren brachte der Versuch 14 wieder ein unerklärliches negatives Ergebnis auf Hieracium auricula. Sollte es sich vielleicht auch hier um eine zufällig gefundene immune Form der Nährpflanze handeln, wie ich sie für Hieracium silvaticum entdeckt habe? Endgültiger Entscheid darf natürlich nicht aus einem einzigen Versuch gezogen werden. Das aber läßt sich mit Sicherheit feststellen, daß die auf Hieracium auricula lebende Form der Puccinia Hieracii jedenfalls nicht nur lokal eine spezialisierte Form darstellt. Ich bezeichne sie deshalb als nov. f. sp. Auriculae. Sie hat auch nichts zu tun mit dem auf Hieracium Zizianum lebenden Pilz.

Puccinia Hieracii (Schum.) Mart., stammend von Hieracium Zizianum.

Wie schon erwähnt, ist diese Hieracium-Art oberhalb der Waldlichtung a bei Ostermundingen auf sandigem Abbruchgebiet ziemlich häufig zu treffen und beherbergt auch die Puccinia Hieracii. Zahn[1]) betrachtet das Hieracium Zizianum mit seinen Unterarten als Zwischenformen und konstant gewordene Bastarde zwischen H. cymosum und H. florentinum. Ich habe diese Pflanze ursprünglich als Hieracium florentinum, ssp. praealtum angesehen und mit ihr unter gleichen Gesichtspunkten experimentiert, wie mit den später zu behandelnden Hieracium florentinum von der Hunzikerbrücke an der Aare (bei Rubigen). Erst die Bestimmung durch Herrn Hermann Zahn warf Licht auf gewisse auffallende Erscheinungen, die ich mir vorher gar nicht erklären konnte, so z. B. der negative Ausfall einer Versuchsreihe mit jungem, keimfähigem Sporenmaterial von Hieracium florentinum. Durch diese Verwechselung wurde allerdings die Form auf Hieracium florentinum bei den Experimenten vernachlässigt, es ist aber trotzdem sehr wahrscheinlich, daß sie eine biologische Art für sich ist und nichts zu schaffen hat mit denjenigen auf Hieracium Zizianum.

XV. Infektionsversuch mit Puccinia Hieracii (Schum.) Mart., stammend von Hieracium Zizianum, ssp. Zizianum.

Am 20. Juni sammelte ich von Pflanzen bei Ostermundingen bei Bern infizierte Blätter und bestäubte tags darauf mit den Sporen folgende Pflanzen:

1.	Hieracium	pilosella | Z.,	schon längere Zeit in Kultur, aus Ostermundingen.
2.	„	auricula | Z.,	„ „ „ „ „ „ „
3.	„	„	Sämling aus München, bot. Garten.
4.	„	Peleterianum,	Sämling aus Göttingen, bot. Garten.
5.	„	aurantiacum,	„ „ Zürich, „ „
6.	„	Bauhini | Z.,	„ „ Hamburg, „ „
7.	„	Zizianum | Z.,	aus Ostermundingen.
8.	„	glaucum | Z.,	Sämling aus Göttingen, bot. Garten.
9.	„	villosum,	„ „ „ „ „
10.	„	villosiceps,	„ „ Genf, „ „
11.	„	alpinum,	„ „ München, „ „

1) Zahn, K. H., Die Hieracien der Schweiz. (Neue Denkschrift der allgem. schweizer. Gesellsch. f. die gesamte Naturwissensch. Bd. XL.)

12. Hieracium pictum | Z., Sämling aus Göttingen, bot. Garten.
13. „ pseudobupleuroides | Z., Sämling aus Heidelberg, bot. Garten.
14. „ scorzonerifolium? „ „ München, „ „
15. „ silvaticum | Z., aus Ostermundingen.
16. „ sabaudum | Z., Sämling aus München, bot. Garten.
17. „ staticifolium, „ „ Göttingen, „ „

Kurz vorher, am 19. Juni, hatte ich die Versuchsreihe VI angesetzt und mußte von dieser her eventuell Verunreinigung gewärtigen.

Die Versuchskontrolle ergab:

Hieracium Zizianum XV 7. Am 3. Juli läßt noch nichts auf erfolgreiche Infektion schließen. 6. Juli: Auf mehreren Blättern sind gelbliche Uredopusteln wahrzunehmen, die 3 Tage später aufgebrochen sind. 12. Juli: Der Pilz hat die Pflanze gleichmäßig und kräftig befallen. Am 20. Juli war die letzte Revision; sie ergab folgendes Resultat: XV 7 ist stark infiziert, die jungen, frisch angelegten Blätter sind gesund.

Hieracium Bauhini XV 6. 6. Juli: Auf zwei Blättern von XV 6 sind die ersten jungen, rotbraunen Uredolager aufgebrochen. 9. Juli: Die Infektion hat auch die Ausläufer ergriffen, Schaft und Blätter, letztere nur auf der Oberseite. 12. Juli: Die Infektion ist reichlich, die Pflanze scheint nicht darunter zu leiden. Als letzten Befund protokollierte ich am 20 Juli: Es liegt eine typische Versuchsinfektion vor, die sich auch intensiv der Ausläufer bemächtigt hat.

Hieracium pilosella XV 1. Ich habe schon darauf aufmerksam gemacht, daß ich am 19. Juni mit Sporen von Hieracium pilosella experimentierte. Diese bewirkten eine Fremdinfektion auf XV 1. Am 12. Juli zeigte nämlich ein Blatt von XV 1 ein einziges Sporenlager, zu dem sich bis zum 20. Juli noch eines gesellte. Sonst blieb die Pflanze gesund.

Nicht befallen vom Pilz wurden alle anderen Versuchspflanzen.

Die Kontrollpflanzen erwiesen sich als pilzfrei.

Um den Versuch absolut rein zu erhalten wiederholte ich ihn noch einmal mit gleichem Material und schloß dabei die nächsten Verwandten des Hieracium Zizianum ein, die ich mir erst nachträglich verschaffen konnte.

XVI. Infektionsversuch mit Puccinia Hieracii (Schum.) Mart., stammend von Hieracium Zizianum, ssp. Zizianum.

Am 25. Juli wurden folgende Pflanzen mit den Sporen bestäubt:

1. Hieracium pilosella | Z., schon längere Zeit in Kultur, aus Ostermundingen bei Bern.
2. „ „ ssp. velutinum | Z., Sämling aus Göttingen, bot. Garten.
3. „ tardans, Sämling aus Genf, bot. Garten.
4. „ auricula | Z., aus Ostermundingen.
5. „ florentinum, ssp. alethes | Z., Sämling aus Zürich, bot. Garten.
6. „ „ Sämling aus Berlin, bot. Garten.
7. „ pratense, „ „ Karlsruhe, „ „
8. „ Bauhini | Z., „ „ Hamburg, „ „
9. „ glaucum | Z., „ „ Marburg, „ „
10. „ amplexicaule, „ „ Berlin, „ „
11. „ silvaticum | Z., schon längere Zeit in Kultur, aus Bolligen b. Bern.

Versuchsergebnis:

Hieracium pratense XVI 7. 2. August: Kein Erfolg der Infektion. 7. August: Sechs Blätter besitzen bereits aufgebrochene Sporenlager. Spätere Beobachtungen ergaben eine Zunahme der Infektion.

Am 24. August hatte dieselbe ihren Höhepunkt überschritten, die älteren pilzbefallenen Blätter starben ab. Immerhin war die Pflanze noch reichlich mit Uredolagern übersät.

Hieracium florentinum, ssp. alethes XVI5. 2. August: Ein Blatt von XVI5 hat schon einige offene Uredolager. Fünf Tage später waren 13 Blätter infiziert. Gleiches Resultat ergaben die späteren Revisionen. Am 24. August war XVI5 noch kräftiger pilzbefallen als XVI7.

Hieracium Bauhini XVI8. Der erste Erfolg wurde konstatiert am 7. August. Die Pflanze wurde vom Pilz außerordentlich stark befallen, immerhin nicht lebhafter als die beiden vorerwähnten Hieracium-Arten. Die Infektion ergriff auch jetzt wieder die grundständigen Blätter und die Ausläufer. Schlußresultat am 24. August: Die Pflanze entwickelt sich normal, die Sporenlager haben sich regelmäßig über dieselbe verbreitet.

Gesund blieben alle anderen Pflanzen, speziell auch Hieracium pilosella.

Auch die Kontrollexemplare waren pilzfrei.

Ergebnis der Versuche XV und XVI. Es liegt auch hier ganz zweifellos eine Spezialisationsform der Puccinia Hieracii vor. Immerhin ist der in Frage kommende Pilz befähigt, noch auf anderen Hieracium-Arten zu leben, als nur auf seiner eigentlichen Nährpflanze. Als solche weitere Wirte ergaben meine Versuche: Hieracium pratense, florentinum, ssp. alethes und Bauhini, d. h. verwandtschaftlich alles ziemlich nahestehende Formen.

Meine Versuche sind nicht erschöpfend, es ließen sich vielleicht aus diesen Artenkreisen noch weitere Wirtspflanzen finden. Bestimmend aber ist das Verhalten gegen Hieracium pilosella, auricula, velutinum und silvaticum, das uns berechtigt, diese Pilzform als nicht zusammenhängend mit einer jener Formen zu betrachten. Ich löse sie als biologische Art von der ursprünglichen Puccinia Hieracii (Schum.) Mart. ab und nenne sie nov. f. sp. Ziziani.

Es muß hier erwähnt werden, daß ich in meiner vorläufigen Mitteilung[1]) diese Form als Puccinia Hieracii praealti bezeichnet habe. Da aber ein Bestimmungsirrtum vorlag und ich die Formen alle nach ihren Nährpflanzen benenne, muß ich obige Bezeichnung widerrufen.

Nicht geprüft wurde das Verhalten gegenüber dem nun zu behandelnden Hieracium florentinum von der Hunzikerbrücke. Daß die zwei Sporenlager auf Hieracium pilosella einer Verunreinigung durch den Versuch VI zuzuschreiben waren, ist bestätigt dadurch, daß diese Pflanze im Versuch XVI vollkommen pilzfrei blieb.

Puccinia Hieracii (Schum.) Mart., stammend von Hieracium florentinum (ssp. obscurum?).

Am 10. Mai 1907 hatte ich bei der Hunzikerbrücke an der Aare bei Rubigen (Kant. Bern) infizierte Blätter von Hieracium florentinum gesammelt und mit den Sporen am 11. Mai einen Versuch eingeleitet. Trotzdem die auf feucht gehaltenen Objektträgern ausgesäten Uredosporen lebhaft keimten, brachte der Versuch doch kein Resultat. Ich nahm damals an, er sei aus irgendeinem unbekannten Grunde mißlungen, vielleicht, weil die Keimungsbedingungen nicht die richtigen waren. Denn der Versuch war der erste Uredoversuch im Jahre 1907, den ich ein-

1) Probst, R., Versuche mit Kompositen-bewohnenden Puccinien. (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIX. 1907.)

leitete. Der prompte und starke Erfolg, den ich bei vollständig gleichbehandelten Reihen kurze Zeit darauf erhielt, allerdings bei anderen Pilzformen, machte mich wieder stutzig, und ich glaube nun, den richtigen Grund durch die Bestimmungen von Herrn Zahn gefunden zu haben.

Bei jener Reihe kam nämlich kein Hieracium florentinum zur Verwendung, sondern nur Hieracium Zizianum, das ich als identisch mit dem Hieracium von der Hunzikerbrücke angeschaut hatte; daneben allerdings noch H. Bauhini.

Obwohl nun negative Versuche nicht absolut beweiskräftig sind, betrachte ich doch provisorisch diesen Pilz auf Hieracium florentinum als eine andere biologische Art, denn die auf Hieracium Zizianum und führe deshalb die Experimente, die ich mit ihm gemacht, an.

XVII. Infektionsversuch mit Puccinia Hieracii (Schum.) Mart., stammend von Hieracium florentinum (ssp. obscurum?).

Am 11. Mai wurden mit Uredosporen folgende Pflanzen bestäubt:

1. Hieracium auricula, Sämling aus München, bot. Garten.
2. „ pilosella | Z., aus Ostermundingen bei Bern.
3. „ aurantiacum | Z., Sämling aus Graz, bot. Garten.
4. „ Zizianum | Z., aus Ostermundingen bei Bern.
5. „ Bauhini | Z., Sämling aus Hamburg, bot. Garten.
6. „ alpinum, „ „ Greifswald, „ „
7. „ Tatrae, „ „ Heidelberg, bot. Garten.
8. „ sabaudum | Z., „ „ „ „ „ „
9. Leontodon hispidus „ „ Antwerpen, bot. Garten.
10. Hieracium silvaticum | Z., aus Ostermundingen bei Bern.

Die Glasglocken wurden bis zum 17. Mai auf den Pflanzen gelassen. Am 14. Mai wurden die Sporenaussaaten auf den Objektträgern kontrolliert. Es sei hier noch erwähnt, daß diese natürlich unter möglichst gleichen Bedingungen gehalten wurden, wie die Versuchspflanzen, da diese Beobachtungen anderenfalls ihren Wert verlieren würden. Ich konnte zahlreiche gekeimte Sporen beobachten. Nichtdestoweniger war die Infektion erfolglos, alle Pflanzen blieben gesund.

Positives Resultat brachte der

XVIII. Infektionsversuch mit Puccinia Hieracii (Schum.) Mart., stammend von Hieracium florentinum (ssp. obscurum?).

Die Reihe wurde am 13. Juni mit Sporenmaterial von der Hunzikerbrücke an der Aare eingeleitet. Die Versuchspflanzen waren:

1. Hieracium florentinum | Z., aus d. Nähe des Standortes a. d. Hunzikerbrücke.
2. „ pilosella | Z., in Kultur gehabt, aus Ostermundingen.
3. „ Peleterianum Sämling aus Göttingen, bot. Garten.
4. „ auricula, „ „ München, „ „
5. „ aurantiacum | Z., „ „ Graz, „ „
6. „ glaucum | Z., „ „ Göttingen, „ „
7. „ alpinum, „ „ München, „ „
8. „ villosiceps, „ „ Genf, „ „
9. „ bupleuroides, „ „ Heidelberg, „ „
10. „ laevigatum | Z., „ „ Karlsruhe, „ „
11. „ silvaticum | Z., aus Ostermundingen.
12. „ balcanum, Sämling aus Breslau, bot. Garten.
13. „ humile | Z., „ „ Göttingen, „ „
14. „ staticifolium, „ „ „ „ „
15. „ sabaudum | Z., „ „ München, „ „

Das Versuchsergebnis war folgendes:

Hieracium florentinum XVIII 1. Am 22. Juni war es noch

gesund. Eine Kontrollpflanze dagegen zeigte ganz schwache Infektion. 27. Juni: 7 Blätter von XVIII1 sind reichlich mit eben aufgebrochenen Sporenlagern bedeckt. Die Kontrollpflanze hat sich nicht stärker infiziert. 3. Juli: Es sind jetzt 9 Blätter pilzbefallen, zudem die beiden Stengel, die Sporenlager erscheinen auf der Blattoberseite. 20. Juli: Letzte Durchsicht: XVIII1 ist gleichmäßig und stark infiziert, die Kontrollpflanze zeigt nur wenige Uredolager.

Hieracium pilosella XVIII2. Am 3. Juli erscheint auf einem Blatt ein einziges Uredolager. Die Pflanze infiziert sich nicht mehr stärker. Es handelt sich offenbar um Fremdinfektion, und zwar wahrscheinlich wieder verursacht durch den Versuch 6.

Resultat der Versuche XVII und XVIII. Den negativen Erfolg der Reihe XVII kann ich mir nur so erklären: Die Puccinia Hieracii auf Hieracium florentinum ist auf ihre Nährpflanze spezialisiert. Sie vermochte nicht zu infizieren Hieracium Zizianum, Bauhini, auricula, pilosella, aurantium nebst einigen Eu-Hieracien. Der Versuch XVIII beweist dies direkt für H. pilosella, auricula, aurantiacum, Peleterianum und wieder für Euhieracien aus verschiedenen Gruppen, er sagt aber nichts aus über das Verhalten gegenüber H. Zizianum und Bauhini. Bevor also weitere Experimente gemacht sind, läßt sich ein definitiver Schluß nicht ziehen. Provisorisch trenne ich jedoch die Formen als selbständige biologische Art ab und nenne sie nov. f. sp. Florentini.

(Siehe Tabelle p. 698.)

B. Puccinia Hieracii auf Arten der Untergattung Euhieracium Torr. et Gray.

Aus der zweiten Untergattung Euhieracium Torr. et Gray experimentierte ich mit den Pilzformen auf:

Hieracium silvaticum L., ssp. ?, stammend aus dem Eigental bei Luzern und Merligen.
„ „ „ „ exotericum Jord. γ) cardiophyllum | Z., bei Ostermundingen (Bern).
„ „ „ pleiotrichum Zahn | Z., vom Morgenberghorn, Berner Oberland.
„ „ „ gentile | Z., von der Wetterlatte, Berner Oberland.
„ Schmidtii Tsch., ssp. Schmidtii α) comatulum Jord. a) verum Zahn | Z., vom Gr. St. Bernhard.
„ cinerascens Jord., ssp. cinerascens α) genuinum Zahn | Z., von Chambrelien (Jura).

Da von diesen Formen diejenige auf H. silvaticum ssp. exotericum am besten durchexperimentiert ist, allerdings auch noch nicht erschöpfend, so stelle ich die diesbezüglichen Versuche an die Basis der Untersuchungen über die Euhieracienpilze, um von ihnen aus dann weitere Gesichtspunkte und vergleichende Momente zu gewinnen.

XIX. Infektionsversuch mit Puccinia Hieracii (Schum.) Mart., stammend von Hieracium silvaticum, ssp. exotericum γ) cardiophyllum.

Am 6. Juni 1907 sammelte ich längs eines Waldweges bei der Station Ostermundingen bei Bern infizierte Pflanzen von H. silvaticum. Es handelte sich um primäre Uredolager, denn ich konnte fast auf allen Blättern noch Pykniden nachweisen. Als Versuchspflanzen kamen zur Verwendung:

Tabelle für die Piloselloiden-Pilzformen.

Versuchspflanzen		Pucc. Hieracii f. sp. Hoppeani	Pucc. Hieracii f. sp. Peleteriani	Pucc. Hieracii f. sp. Pilosellae a	Pucc. Hieracii f. sp. Pilosellae b	Pucc. Hieracii f. sp. Velutini	Pucc. Hieracii f. sp. Auriculae	Pucc. Hieracii f. sp. Ziziani	Pucc. Hieracii f. sp. Florentini
Hieracium Hoppeanum | Z.	Piloselloiden	+	.	—	.	.	.	.	.
„ Peleteriannm | Z.		—	+	—	—	—	+	—	—
„ pilosella, ssp. vulgare genuinum subpilosum, Standort a | Z.		—	—	+	—	—	—	—	—
„ pilosella, ssp. vulgare genuinum subpilosum, Standort b | Z.		.	.	—	+	.	.	—	.
„ pilosella, ssp. vulgare genuinum subpilosum, Bot. Garten | Z.		.	.	—	.	.	.	.	.
„ pilosella, ssp. velutinum | Z.		—	—	—	—	+	—	—	.
„ rubrum		—	—	—	+	—	.	—	.
„ stoloniflorum | Z.		—	.	.	—	—	.	.	.
„ flagellare | Z.		—	—	.	.	.	.	.	.
„ tardans		.	.	—	+	—	—	—	.
„ auricula | Z.		—	—	—	—	—	+	—	—
„ furcatum		.	—	—	+	—	.	.	.
„ pratense		—	—	.	—	—	.	+	.
„ aurantiacum | Z.		—	—	—	.	—	.	—	—
„ florentinum, ssp. alethes | Z.		—	—	—	.	—	—	+	.
„ florentinum, ssp. obscurum? | Z.		.	.	.	.	.	.	.	+
„ Zizianum | Z.		.	.	—	.	.	.	+	—
„ Bauhini | Z.		—	—	.	—	—	—	+	—
„ glaucum | Z.	Euhieracien	—	—	—	.	—	—	—	—
„ villosum		—	—	—	.	—	—	—	.
„ villosiceps		.	—	.	.	.	.	—	—
„ pseudobupleuroides | Z.		.	—		.	.	.	—	.
„ bupleuroides?		.	.	.	.	.	.	.	—
„ silvaticum | Z.		—	—	—	—	.	—	—	—
„ vulgatum		—	.	.	.	—	.	.	.
„ alpinum		—	.	—	.	.	—	—	—
„ scorzonerifolium?		.	.	.	.	.	—	—	.
„ amplexicaule		.	—	.	.	.	—	—	.
„ hispidum?		—	.	.	.	.	.	.	.
„ cruentum		—	—	.	.	.	.	.	.
„ pictum | Z.		—	—	—	.	—	—	—	.
„ humile | Z.		.	.	.	.	.	.	.	—
„ Schmidtii | Z.		.	.	.	.	.	.	.	.
„ cerinthoides?		.	.	.	.	.	—	.	.
„ ochroleucum | Z.		.	.	—	.	.	—	.	.
„ sabaudum | Z.		.	—	.	—	.	—	—	—
„ balcanum		.	.	.	.	.	—	.	—
„ staticifolium		.	.	.	.	.	.	—	—
„ saxatile?		.	.	.	.	.	—	.	.
„ Tatrae		.	.	.	.	.	.	.	—
Leontodon hispidus		.	.	.	.	.	.	.	—

Zeichenerklärung: + intensiver Erfolg; — negativer Erfolg.

1. Hieracium glaucum | Z., Sämling aus Marburg, bot. Garten.
2. „ bupleuroides, „ „ Berlin, „ „
3. „ villosum, „ „ Karlsruhe, Pflanze von 1906.
4. „ villosiceps, „ „ Genf, bot. Garten.
5. „ silvaticum, ssp. exotericum γ) cardiophyllum Z., vom Standort des Versuchspilzes.
6. „ amplexicaule, Sämling aus Berlin, bot. Garten.
7. „ ochroleucum Schl. | Z. } synonym „ „ Genf „ „
8. „ picroides Vill. } synonym „ „ Marburg, „ „
9. „ alpinum, Sämling aus München.
10. „ Jankae, „ „ Heidelberg, bot. Garten.
11. „ Tatrae, „ „ „ „ „
12. „ pannosum, „ „ Berlin, „ „
13. „ staticifolium, „ „ Göttingen, „ „
14. „ sabaudum | Z., „ „ Heidelberg, „ „
15. „ juranum, „ „ Berlin, „ „
16. „ pseudobupleuroides | Z., „ „ Heidelberg, „ „
17. „ pilosella, ssp. vulgare | Z., in Kultur schon läng. Zeit, von Ostermund
18. „ auricula | Z., „ „ „ „ „ „ „
19. „ „ Sämling aus München, bot. Garten.
20. „ Peleterianum, „ „ Göttingen, „ „
21. „ aurantiacum | Z., „ „ Graz, „ „
22. „ flagellare | Z., „ „ Kiel, „ „
23. „ Bauhini | Z., „ „ Hamburg, „ „
24. Leontodon hispidus „ „ Antwerpen, „ „

Das Versuchsergebnis gestaltete sich folgendermaßen:

Hieracium silvaticum XIX 5. 18. Juni: gesund, in gutem Zustande. 21. Juni: Die Pflanze scheint infiziert zu sein. 24. Juni: Die Beobachtung vom 21. bewahrheitete sich nicht, XIX 5 war noch gesund. 27. Juni: pilzfrei.

Hieracium ochroleucum XIX 7. 21. Juni: Fast auf allen Blättern sind Uredosporen zu bemerken. 24. Juni: Die Pusteln sind aufgebrochen. Etwa 20 Blätter sind dicht übersät mit Uredolagern, Blattober- und Unterseite. 27. Juni: Die Infektion ist außerordentlich kräftig, das Blattgrün verschwindet fast zwischen den zahlreichen Sporenlagern.

Hieracium picroides XIX 8. Der Erfolg konnte erst am 27. Juni konstatiert werden: Auf einem Blatt erschienen 2 Uredolager. 2. Juli: Ein weiteres Blatt weist ein Sporenlager auf. Die Pflanze infizierte sich nicht mehr stärker.

Hieracium glaucum XIX 1. 21. Juni: gesund. 27. Juni: Immer noch pilzfrei. 2. Juli: Etwa 11 Blätter tragen Sporenlager, gleichmäßig über ihre Oberseite verteilt. Die Infektion veränderte sich nicht mehr wesentlich.

Pilzfrei blieben alle anderen Pflanzen.

Die Kontrollpflanzen von H. silvaticum waren gesund.

Mit dem Sporenmaterial von Hieracium ochroleucum leitete ich ein den

XX. Infektionsversuch mit Puccinia Hieracii (Schum.) Mart., stammend vom Versuch 19.

Befremdet hatte mich der negative Erfolg auf Hieracium silvaticum vom Standort des Versuchspilzes. Darum nahm ich eine abermalige Bestäubung dieser Pflanze vor. Die Infektion wurde am 29. Juni vorgenommen und dazu noch folgende Pflanzen einbezogen:

1. Hieracium silvaticum | Z., vom Versuch 19.
2. „ „ ssp. prasiophaeum | Z., Sämling aus Zürich, bot. Garten.
3. „ villosum, vom Versuch 19.
4. „ pseudobupleuroides | Z., vom Versuch 19.
5. „ amplexicaule, vom Versuch 19.
6. „ ochroleucum | Z., Sämling aus Genf.

Ich nahm die Bestäubung im Versuchshäuschen vor, wo die Reihe XIX stand, so daß dieselbe also indirekt auch noch Sporen erhielt. Trotzdem zeigte keine der bei der Kontrolle vom Versuch XIX als gesund befundenen Hieracium-Arten nachträgliche Infektion. Die Reihe 20 aber zeigte folgendes Resultat:

Hieracium ochroleucum XX 6. 17. Juli: 2 Blätter zeigen Spuren von Infektion. 20. Juli: XX 6 ist wieder riesig infiziert, mindestens ebenso stark wie beim Versuch 19. 23. Juli: Die Infektion scheint den Höhepunkt erreicht zu haben, die Pflanze fängt an zu welken.

Hieracium pseudobupleuroides XX 4. 17. Juli: Auf verschiedenen Blättern zeigen sich Uredopusteln ähnliche Gebilde. 18. Juli: Diese gelben Verfärbungen sind noch nicht aufgebrochen. 20. Juli: Einige ältere Blätter zeigen Sporenlager; die mikroskopische Untersuchung ergibt, daß bereits Teleutosporen gebildet worden sind, allerdings nicht ausschließlich. 23. Juli: 2 weitere Blätter besitzen je ein Sporenlager.

Hieracium amplexicaule XX 5. Ein Erfolg ist erst am 23. Juli zu notieren. Auf 2 Blättern sind einige wenige Sporenlager zu bemerken. Die Pflanze infizierte sich nicht mehr stärker.

Gesund blieben Hieracium silvaticum, ssp. exotericum, silvaticum, ssp. prasiophaeum und villosum.

XXI. Infektionsversuch mit Puccinia Hieracii (Schum.) Mart., stammend von Hieracium silvaticum, ssp. exotericum γ) cardiophyllum.

Das Sporenmaterial stammte vom Standort bei der Station Ostermundingen bei Bern. Am 3. Juli wurden folgende Pflanzen bestäubt:

1. Hieracium silvaticum, ssp. exotericum γ) cardiophyllum | Z., vom Standort des Pilzes.
2. " " " " β) nemorense | Z., von Ostermund.
3. " " " prasiophaeum | Z., Sämling aus Zürich, bot. Gart.
4. " humile | Z., Sämling aus Göttingen, bot. Garten.
5. " pictum | Z., " " " " "
6. " ochroleucum | Z., " " Genf, " "
7. " pilosella, ssp. vulgare | Z., aus Ostermundingen bei Bern.
8. " auricula | Z., schon einige Zeit in Kultur, aus Ostermundingen.
9. " florentinum, ssp. alethes | Z., Sämling aus Zürich, bot. Garten.
10. " " (ssp. obscurum?) | Z., von der Hunzikerbrücke an der Aare (bei Rubigen).
11. " Bauhini | Z., Sämling aus Hamburg, bot. Garten.

Die auf Objektträger ausgesäten Sporen hatten reichlich gekeimt.

Versuchsergebnis:

Hieracium silvaticum, ssp. exotericum γ) cardiophyllum XXI 1. Revisionen der Pflanzen wurden vorgenommen am 15., 19., 20., 22., 26., 30. Juli. XXI 1 blieb während der ganzen Dauer der Beobachtung pilzfrei.

Hieracium ochroleucum XXI 6. Es wies wieder den ersten positiven Erfolg auf und zwar am 19. Juli. Am 22. waren wieder fast alle Blätter von Uredolagern bedeckt. In den folgenden Tagen nahm die Infektion noch zu, so daß am 30. Juli die Pflanze ganz braun erschien durch die vielen Sporenlager.

Hieracium pictum XXI 5. 20. Juli: Auf 3 Blättern waren zahlreiche Sporenlager zu bemerken, die sich am 22. Juli noch vermehrt hatten. 26. Juli: Die Pflanze wies eine gleichmäßige Infektion auf. 30. Juli: Gleiches Resultat.

Hieracium humile XXI 4. Die ersten Sporenlager erschienen erst am 22. Juli. Bis zum 30. Juli brachen immer noch neue Uredolager auf, so daß bei der letzten Revision eine typische Versuchsinfektion zu konstatieren war.

Pilzfrei blieben alle anderen Pflanzen, auch die Kontrollexemplare.

XXII. Infektionsversuch mit Puccinia Hieracii (Schum.) Mart., stammend von Hieracium silvaticum, ssp. exotericum γ) cardiophyllum.

Mit Sporenmaterial von demselben Standort leitete ich am 5. Sept. eine Reihe ein. Als Versuchspflanzen kamen zur Verwendung:

1.	Hieracium	silvaticum, aus dem Eigental (Pilatus), seit 1906 in Kultur.	
2.	„	„ ssp. exotericum γ) cardiophyllum | Z., vom Standort des Pilzes.	
3.	„	„ „ „ γ) cardiophyllum | Z., vom Standort des Pilzes.	
4.	„	„ ssp. ?, vom Standort b bei Ostermundingen.	
5.	„	„ ssp. prasiophaeum | Z.,	Sämling aus Zürich, bot. Gart.
6.	„	„ „ „ ?,	„ „ Münch., „ „
7.	„	vulgatum,	Sämling aus München, bot. Garten.
8.	„	humile | Z.,	„ „ Göttingen, „ „
9.	„	laevigatum ssp. rigidum | Z.,	„ „ München „ „
10.	„	intybaceum | Z.,	„ „ Lausanne, „ „
11.	„	prenanthoides | Z.,	„ „ Göttingen, „ „
12.	„	trebevicianum | Z.,	„ „ Bukarest, „ „
13.	„	cerinthoides,	„ „ Genf, „ „
14.	„	balcanum,	„ „ Breslau, „ „
15.	„	picroides | Z.,	„ „ Marburg „ „
16.	„	Schmidtii,	„ „ Christiana, „ „
17.	„	„ ssp. Schmidtii | Z., vom Gr. St. Bernhard.	
18.	„	hispidum, Sämling aus Breslau, bot. Garten.	

Außer Hieracium prenanthoides und intybaceum waren alle Pflanzen nach dem Entfernen der Glasglocken gut erhalten. Diese zwei erwähnten Arten gingen denn auch zugrunde, bevor ein Infektionsresultat zu bemerken war.

Infektionsergebnis:

Hieracium silvaticum XXII 1. Es blieb während der ganzen Versuchsdauer pilzfrei.

Hieracium silvaticum XXII 2. Es blieb während der ganzen Versuchsdauer pilzfrei.

Hieracium silvaticum XXII 3. Ich hatte die Pflanze schon seit Frühling 1907 in Kultur und sie schon in anderen Versuchen verwendet, nämlich bei Reihe XII. Sie war nie infiziert worden. Bei Revisionen vom 16., 18., 23. und 29. Sept. wies die Pflanze noch keine Sporenlager auf. Am 30. Sept. verließ ich Bern und konnte die Kontrolle erst am 23. Okt. wieder aufnehmen. Da bemerkte ich auf allen älteren Blättern von XXII 3 zahlreiche Teleutosporenlager, währenddem die jüngeren Blätter alle gesund waren.

Hieracium silvaticum XXII 4. 23. Sept.: Auf der ganzen Pflanze konnte ich 3 Teleutosporenlager zählen. 29. Sept.: Die Infektion war um ein weniges kräftiger geworden. 23. Okt.: XXII 4 weist eine gleichmäßige, auf die älteren Blätter beschränkte Infektion auf.

Hieracium humile XXII 8. Auch hier konnte ein positives Ergebnis erst am 23. Okt. nachgewiesen werden, alle Blätter besaßen Teleutosporenlager.

Hieracium trebevicianum XXII 12. 23. Sept.: Viele Sporenlager treten auf, gleichmäßig über die Blätter verteilt. 29. Sept.: Die Infektion ist sehr reichlich. Ich mußte die Pflanze ins Herbarium legen, um sie bestimmen zu lassen, weshalb keine weiteren Beobachtungen gemacht werden konnten.

Hieracium picroides XXII 15. Am 21. Sept. trat auf einem Blatt ein einziges Sporenlager auf. Die Infektion wurde nicht mehr intensiver. Am 23. Okt. hatte die Pflanze die älteren Blätter verloren und neue angelegt; diese waren sämtlich pilzfrei.

Hieracium Schmidtii XXII 17. Es erwies sich erst am 23. Okt. schwach infiziert. Ob die Infektion vom Versuch herrührt oder als Standortsinfektion aufzufassen ist, läßt sich nicht absolut sicher entscheiden. Für die letztere Annahme spricht der negative Erfolg auf Hieracium Schmidtii XXII 16. Ich untersuchte sämtliche Blattreste dieser Pflanze mikroskopisch und konnte keine Infektion konstatieren. Zugleich glaube ich mich zu erinnern, unter den Kontrollexemplaren eine pilzbefallene Pflanze gefunden und eliminiert zu haben.

Pilzfrei blieben also: Hieracium silvaticum XXII 1, silvaticum XXII 2, silvaticum, ssp. prasiophaeum XXII 5 und XXII 6, vulgatum XXII 7, laevigatum, ssp. rigidum XXII 9, cerinthoides? XXII 13, balcanum XXII 14, Schmidtii XXII 16 und hispidum? XXII 18.

Diskussion der Versuche XIX, XX, XXI und XXII.

Als auffälligstes Resultat ergibt sich: Die Puccinia Hieracii auf Hieracium silvaticum, ssp. exotericum γ) cardiophyllum ist nicht allein auf ihre Nährpflanze spezialisiert; sie befällt auch noch eine Anzahl anderer Euhieracien, von denen meine Versuche nachwiesen: Hieracium ochroleucum, picroides, glaucum, pseudobupleuroides, amplexicaule, pictum, humile und trebevicianum.

Sie geht aber nicht über auf Hieracium-Arten der Untergattung Pilosella Tausch und man kann deshalb diese Form trotz ihres plurivoren Charakters als eine auf Euhieracien spezialisierte Form auffassen. Nach ihrer Wirtspflanze nenne ich sie Puccinia Hieracii n. f. sp. silvatici s. str.

In allen 4 Versuchen tritt eine vom Standort des Versuchspilzes gesammelte Hieracium-Species auf, die von der Nährpflanze morphologisch absolut nicht unterschieden werden kann und doch nicht infiziert wird. Herr Hermann Zahn hatte die Güte, der Untersuchung infizierter und immuner Exemplare spezielle Aufmerksamkeit zu schenken. Beide Pflanzen wurden an reichem Material bestimmt als Hieracium silvaticum, ssp. exotericum γ) cardiophyllum und Herr Zahn fügte die Bemerkung bei: Die infizierte Pflanze ist von der immunen in keiner Weise verschieden.

Ich werde im allgemeinen Teil auf diesen höchst interessanten Fall von Rassenimmunität noch zu sprechen kommen.

Bemerkenswert ist ferner der außerordentlich prompte und intensive Infektionserfolg auf Hieracium ochroleucum Schl., ssp. picroides und demgegenüber das ablehnende Verhalten des Hieracium picroides Vill. Nach Zahns Monographie der schweizerischen Hieracien[1]) sind Hieracium ochroleucum Schl. und H. picroides Vill. Synonyme.

Es waren im Versuch XIX Hieracium pseudobupleuroides und amplexicaule nicht infiziert worden, und erst bei abermaliger Bestäubung im Versuch XX ergaben sie eine auffällig schwache Infektion, die aber unbedingt als Versuchsinfektion anzusehen ist. Mit diesem Verhalten stimmen nun gar nicht überein zwei Versuche, die ich im Sommer 1906 ausgeführt habe.

1) Zahn, K. H., l. c. p. 658.

XXIIIa. Infektionsversuch mit Puccinia Hieracii (Schum.) Mart., stammend von Hieracium silvaticum.

Das Infektionsmaterial verdanke ich Herrn Prof. Dr. Fischer, der es für mich auf einer Exkursion nach Merligen am Thunersee gesammelt hatte. Am 30. Mai 1906 wurden die Uredosporen auf folgende Pflanzen gebracht:

1.	Hieracium villosum,	Sämling aus Göttingen,	1 Monat alt.
2.	„ sabaudum,	„ „ Heidelberg,	1 „ „
3.	„ pseudobupleuroides,	„ „ „	1 „ „
4.	„ auricula,	„ „ München,	1 „ „

Ergebnis des Versuches:

Hieracium villosum XXIII 1. Am 12. Juni waren auf einigen Blättern gelbliche Uredopusteln zu beobachten. 15. Juni: Die Pusteln waren auf der Blattoberseite und fast sämtlich aufgebrochen. Am 18. Juni zählte ich etwa 15 kleine, dunkelbraune Uredolager. Die letzte Beobachtung datiert vom 10. Juli. Da war noch ein Blatt mit Sporenlagern übersät.

Hieracium pseudobupleuroides XXIII 3. Die Uredopusteln zeigten sich schon am 11. Juni und brachen dann am 15. Juni auf. Die Pflanze war verhältnismäßig stark infiziert. Am 10. Juli wurde sie immer noch als pilzbefallen befunden.

Gesund blieben Hieracium sabaudum und auricula.

Ganz ähnliches Resultat ergab ein Versuch XXIII b mit Sporen von H. silvaticum aus dem Eigental (Pilatus) mit positivem Ergebnis. Infiziert wurden durch diesen Pilz:

Hieracium amplexicaule, aus Göttingen.
„ glaucum, „ München.
„ villosum, „ Göttingen.

Es handelte sich wieder um Keimlinge vom Alter 1 Monat.

Verifikation durch Herrn Zahn liegt nur für eine dieser Pflanzen vor, nämlich für H. pseudobupleuroides. Jedoch glaube ich, bei den Sämlingen aus München und Göttingen ebenfalls richtige Bestimmungen annehmen zu dürfen.

Was kann nun, richtige Bestimmung vorausgesetzt, dieses gegenüber den Reihen XIX und XX so verschiedentliche Verhalten veranlaßt haben?

Ich kann nur 2 Möglichkeiten annehmen: Entweder handelt es sich in beiden Fällen um eine andere Pilzrasse oder dann ist das Alter der Pflanzen die bestimmende Ursache. Denn in den Versuchen XIX und XX, wo also H. villosum gesund blieb, H. pseudobupleuroides und amplexicaule erst nach 2-maliger Bestäubung mit Sporen positiv infiziert wurden, handelte es sich um ein- bis zweijährige Pflanzen, während bei den 2 Ausnahmeversuchen Keimlinge vom Alter 1 Monat zur Verwendung kamen. Definitive Entscheidung der Frage wird erst bei Nachprüfung möglich sein.

XXIV. Infektionsversuch mit Puccinia Hieraccii (Schum.) Mart., stammend von Hieracium silvaticum, ssp. exotericum?

Um die Immunität des bereits erwähnten H. silvaticum von Ostermundingen auch gegenüber der Puccinia Hieracii silvatici eines anderen Standortes zu prüfen, setzte ich eine weitere Versuchsreihe an. Das Sporenmaterial fand ich am 7. Juli bei den Steinbrüchen ob Bolligen bei Bern. Die Versuchspflanzen waren:

1. Hieracium silvaticum } bei Bolligen ausgegraben.
2. „ „ }
3. „ „ | Z., aus Ostermundingen, immun in den früheren Versuchen.
4. „ „ ssp. prasiophaeum | Z., Sämling aus Zürich, bot. Garten.
5. „ ochroleucum | Z., Sämling aus Genf, bot. Garten.
6. „ auricula | Z., bei Bolligen ausgegraben.
7. „ pilosella, ssp. velutinum | Z., Sämling aus Göttingen, bot. Garten.
8. „ florentinum | Z., von der Hunzikerbrücke.

Das Versuchsergebnis war folgendes:

Am 16. Juli waren auf den Objektträgerkulturen einige Keimungen zu beobachten.

Hieracium silvaticum XXIV 1. Am 20. Juli weist es auf allen Blättern die typischen Verfärbungen auf, die auf Infektion schließen lassen. 22. Juli: Es sind schon zahlreiche Sporenlager aufgebrochen, sie sind nur auf die Oberseite lokalisiert. 29. Juli: Die Infektion ist außerordentlich reichlich, die Uredolager bilden einen braunen Blattüberzug. Gleiches Resultat ergab eine Revision am 9. August.

Hieracium ochroleucum XXIV 5. Diesmal ist der Erfolg nicht so schnell und auch bei weitem nicht so intensiv, wie in den vorherigen Versuchen. Die ersten deutlichen Anzeichen von Infektion beobachtete ich am 25. Juli. Bis zum 29. Juli nahm dieselbe noch zu. Die Schlußbeobachtung am 9. August ergab: XXIV 5 ist infiziert, aber nicht kräftig.

Pilzfrei blieben dagegen Hieracium silvaticum von Ostermundingen und die anderen Species.

Die Immunität des H. silvaticum aus Ostermundingen bewährte sich demnach auch in diesem Versuch. Es scheint des ferneren auch das Hieracium silvaticum XXIV 2, das vom Standort des Versuchspilzes ausgegraben worden war und auch dort schon gesund geblieben, eine immune Rasse zu sein.

Puccinia Hieracii (Schum.) Mart., stammend von Hieracium silvaticum, ssp. gentile.

Auf einer Exkursion nach der Wetterlatte im Suldtal (Berner Oberland) fand ich bei der sog. Renggalp bei ca. 1500 m reichlich infizierte H. silvaticum, ssp. gentile, mit welchem Material ich einen Versuch einleitete.

XXV. Infektionsversuch mit Puccinia Hieracii (Schum.) Mart., stammend von Hieracium silvaticum, ssp. gentile.

Die Bestäubung wurde am 19. Juli 1907 vorgenommen und folgende Pflanzen dazu verwendet:

1. Hieracium silvaticum, bei Bolligen ausgegraben.
2. „ cerinthoides Sämling aus Genf, bot. Garten.
3. „ trebevicianum | Z., „ „ Bukarest, „ „
4. „ intybaceum | Z., „ „ Lausanne, „ „
5. „ Schmidtii „ „ Christiania, „ „
6. „ balcanum „ „ Breslau, „ „
7. „ humile | Z., „ „ Göttingen, „ „
8. „ pulmonarioides „ „ Frankfurt, „ „
9. „ vulgatum „ „ Karlsruhe, „ „

Der Versuch fiel in die Zeit, da ich häufig auf Exkursionen war und die Kontrolle daher nur in größeren Intervallen vornehmen konnte.

Versuchsergebnis:

Hieracium intybaceum XXV 4. Am 9. August war es bereits infiziert. Fast sämtliche Blätter wiesen Sporenlager auf. 20. August:

XXV 4 war stark infiziert. Dasselbe Resultat ergaben Kontrollen am 24. August und 9. September. Am 23. Oktober waren die älteren, infizierten Blätter bis auf eines zugrunde gegangen. Von den jüngeren Blättern hatte sich ein einziges infiziert.

Hieracium balcanum XXV 6. Am 9. August war noch kein Erfolg zu erkennen. Die Revision vom 20. August aber konstatierte eine gleichmäßige, kräftige Infektion, die bis zum 24. August anhielt; dann fing die Pflanze zu welken an.

Hieracium humile XXV 7. Am 20. August war auf 2 Blättern je ein Sporenlager aufgebrochen. 24. August: Die Infektion war noch nicht intensiver geworden. 9. September: Es tritt auf 6 Blättern je ein Uredolager auf.

Pilzfrei blieben alle anderen Pflanzen.

Diskussion des Resultats. Der Versuch ist zwar vereinzelt. Trotzdem weist er gewisse markante Punkte auf, die ihn von den Versuchen XIX bis XXIV scharf unterscheiden:

1) Es blieb pilzfrei Hieracium silvaticum aus Bolligen bei Bern.

2) Relativ kräftig befallen wurde Hieracium balcanum, das in Versuch XXII sich negativ verhielt.

3) Die äußerst schwache Infektion bei Hieracium humile ist vielleicht eine Verunreinigung, verursacht durch die Sporen der Reihe XXIV, speziell des stark befallenen Hieracium silvaticum.

4) Negativ verhielt sich hier das Hieracium trebevicianum, das in der Reihe XXII kräftig infiziert wurde.

Der vorliegende Versuchspilz wäre demnach jedenfalls eine biologische Art für sich, für die mein Versuch folgende Nährpflanzen nachwies: Hieracium intybaceum, balcanum (humile?).

Puccinia Hieracii (Schum.) Mart., stammend von Hieracium silvaticum, ssp. pleiotrichum.

Als 3. Vertreter der Gruppe des Hieracium silvaticum stand mir zur Verfügung Hieracium silvaticum, ssp. pleiotrichum. Die Pflanze stammt vom Paß Tanzbödeli, der vom Suldtal ins Saxetental (Berner Oberland) führt, und hatte ihren Standort bei 1800 m Höhe.

XXVI. Infektionsversuch mit Puccinia Hieracii (Schum.) Mart., stammend von Hieracium silvaticum, ssp. pleiotrichum.

Das Material war ziemlich reichlich. Am 18. Juni bestäubte ich folgende Pflanzen.

1. Hieracium silvaticum | Z., aus Ostermundingen, wahrscheinlich immun, da es vom Standort der immunen Rasse herstammt.
2. „ „ ssp. pleiotrichum | Z., vom Tanzbödeli-Paß.
3. „ villosum?, vom Tanzbödeli-Paß.
4. „ pictum | Z., Sämling aus Göttingen, bot. Garten.
5. „ pilosella, ssp. vulgare | Z., aus Ostermundingen.
6. „ „ ssp. velutinum | Z., Sämling aus Göttingen, bot. Garten.
7. „ auricula | Z., aus Ostermundingen.
8. „ staticifolium, Sämling aus Göttingen, bot. Garten.

Versuchsergebnis:

Hieracium silvaticum ssp. pleiotrichum XXVI 2. Am 27. Juni brachen die ersten Uredolager auf. Fast sämtliche Blätter sind über und über bedeckt mit gelben Pusteln. 2 Tage später sind wieder viele der Pusteln aufgebrochen. 3. Juli: Die Infektion hat den Höhe-

punkt erreicht; die Oberseite der Blätter läßt fast nichts mehr von Grün erkennen, so reichlich sind die Sporenlager. Die letzte Beobachtung geschah am 16. Juli und hatte dasselbe Ergebnis, nur fingen die Blätter zu welken an.

Gesund blieben alle anderen Pflanzen.

Die Kontrollpflanzen waren zugrunde gegangen, bevor das Versuchsergebnis zu konstatieren war.

XXVII. Infektionsversuch mit Puccinia Hieracii (Schum.) Mart., stammend von Hieracium silvaticum, ssp. pleiotrichum, infiziert durch Versuch 26.

Die Uredosporen des Versuchs XXVI gebrauchte ich zu einer weiteren Bestäubung. Nur hatte ich kein Exemplar der Nährpflanze mehr, so daß also der Versuch den Charakter eines negativen Versuchs erhielt. Die Versuchspflanzen waren folgende:

1. Hieracium silvaticum, ssp. exotericum | Z., aus Ostermundingen bei Bern.
2. „ pictum | Z., Sämling aus Göttingen, bot. Garten.
3. „ staticifolium „ „ „ „ „
4. „ ochroleucum | Z., „ „ Genf, „ „
5. „ glaucum „ „ München „ „
6. „ villosum? vom Paß Tanzbödeli ausgegraben.
7. „ pilosella, ssp. vulgare | Z., aus Ostermundingen bei Bern.
8. „ „ ssp. velutinum | Z., Sämling aus Göttingen, bot. Garten.
9. „ auricula | Z., aus Ostermundingen bei Bern.

Die Reihe wurde am 17. Juli angesetzt. Am 20. Juli beobachtete ich schon sehr zahlreiche Keimungen auf den Objektträgern, die feucht gehalten wurden.

Die Reihe wurde bis zum 24. August kontrolliert. Am 9. erschien auf Hieracium ochroleucum ein einziges Sporenlager, das jedenfalls als Fremdinfektion zu betrachten ist. Alle anderen Pflanzen blieben vollkommen gesund.

Resultat der Reihen XXVI und XXVII. Die beiden Versuche ergaben, daß die auf Hieracium silvaticum, ssp. pleiotrichum lebende Form der Puccinia Hieracii auf ihre Nährpflanze spezialisiert zu sein scheint. Wäre die Spezialisation auch keine so extreme, so dürfte der Pilz dennoch mit vollem Recht als selbständige biologische Art von den übrigen Formen auf Hieracium silvaticum unterschieden werden. Denn er vermag weder Hieracium ochroleucum, glaucum noch pictum zu befallen. Unklar ist allerdings noch sein Verhältnis zum Pilz auf Hieracium silvaticum, ssp. gentile.

Puccinia Hieracii (Schum.) Mart., stammend von Hieracium Schmidtii.

Auf einer Exkursion ins St. Bernhard Gebiet fand ich diese Hieracium-Species ziemlich häufig infiziert. Ich sammelte deshalb von einem Standort oberhalb St. Rhémy, auf der italienischen Seite, Infektionsmaterial für den folgenden Versuch.

XXVIII. Infektionsversuch mit Puccinia Hieracii (Schum.) Mart., stammend von Hieracium Schmidtii, ssp. Schmidtii.

Von der gleichen Exkursion hatte ich auch die Puccinia Hieracii, f. sp. Peleteriani heimgebracht, von der ich aber keine Verunreinigung zu befürchten hatte. Am 20. Aug. wurde die Bestäubung folgender Pflanzen vorgenommen:

1. Hieracium Schmidtii, ssp. Schmidtii | Z., vom Gr. St. Bernhard
2. „ silvaticum, ssp. exotericum | Z., immun, aus Ostermund. b. Bern.

3. Hieracium silvaticum aus Bolligen.
4. „ Schmidtii, Sämling aus Christiania, bot. Garten.
5. „ vulgatum, „ „ Karlsruhe, „ „
6. „ glaucum, „ „ Göttingen, „ „
7. „ cinerascens | Z., aus dem Jura, bei Chambrelieu.
8. „ villosum, Sämling aus S. C. St. Zürich.
9. „ alpinum, „ „ Greifswald, bot. Garten.
10. „ cerinthoides, „ „ Genf, „ „
11. „ pictum | Z., „ „ Göttingen, „ „
12. „ humile | Z., „ „ „ „ „
13. „ ochroleucum | Z., „ „ Genf, „ „
14. „ pilosella, ssp. velutinum | Z., „ „ Göttingen, „ „
15. „ auricula, ssp. auricula | Z., aus Ostermundingen.

Die auf Objektträger ausgesäten Sporen lagen ziemlich dicht und waren fast ausschließlich Uredosporen. Da während kurzer Abwesenheit die Objektträgerkulturen vertrockneten, waren keine Keimungen zu beobachten.

Die Versuchskontrolle ergab folgendes:

Hieracium Schmidtii XXVIII 1 und 4. Beide Töpfe hatten gut erhaltene Pflanzen. Den ersten Erfolg ließ XXVIII 1 erkennen, indem am 5. Sept., also 15 Tage nach der Infektion, die ersten frischen Uredohäufchen aufgebrochen waren. Die Infektion wuchs in den folgenden Tagen. Am 9. Sept. war auch XXVIII 4 pilzbefallen. Die Pflanze war ein Keimling von etwa 3 Monaten und hatte nur wenige Blätter. 4 derselben waren dicht besät mit Sporenhäufchen, nur auf der Blattoberseite. Ein Schimmelpilz, der die Pflanze zuerst befallen hatte, ist verschwunden. 16. Sept.: Die Uredolager haben ihr frisches Aussehen verloren, einige Blätter von XXVIII 1 sind schon gelb geworden. 20. Sept.: Beide Pflanzen XXVIII 1 und 4 sind zugrunde gegangen.

Hieracium humile XXVIII 12. Am 7. Sept. ließen 4 Blätter vereinzelte Sporenhäufchen erkennen. Dabei waren auf der Oberseite der Blattspreite noch junge Uredopusteln zu bemerken, die am 9. Sept. fast sämtlich aufgebrochen waren. Die Infektion war gleichmäßig, intensiv und erreichte ihren Höhepunkt am 10. Sept. Die Beobachtung wurde fortgesetzt bis zum 27. Sept., ohne irgendwelche wesentliche Veränderungen zu ergeben.

Hieracium ochroleucum XXVIII 13. Die Pflanze war stark verschimmelt. Dennoch erschienen am 9. Sept. auf einem Blatt zwei Sporenhäufchen. Am 10. Sept. notierte ich denselben Befund. Am 13. Sept. trat ein drittes Sporenlager auf demselben Blatt auf. Der 18. Sept. ergab keine Veränderung in der Infektion, der Schimmel trat zurück. 20. Sept.: Verspätet erschienen jetzt auf 4 Blättern Sporenhäufchen, im ganzen etwa 12. Die übrigen Blätter sind durch den Schimmel zugrunde gerichtet worden. 27. Sept.: Ich konstatierte noch dieselbe Zahl von Uredolagern.

Peinliche Durchsicht aller anderen Versuchspflanzen ergab, daß sie vollkommen pilzfrei waren; auch die Kontrollpflanzen von H. Schmidtii erwiesen sich als gesund bis auf ein Exemplar, das wenige Sporenlager hatte.

Resultat der Reihe XXVIII.

Die auffälligsten Unterschiede gegenüber den Versuchsreihen mit der Puccinia Hieracii f. sp. silvatici s. str. sind in folgendem zu finden:

1) Es blieb pilzfrei Hieracium silvaticum XXVIII 1 und 2. Vom ersten Exemplar konnte man dieses Ergebnis erwarten, das Hieracium silvaticum von Bolligen aber wurde im Versuch XXIV außerordentlich kräftig infiziert, war also normal in seinem Verhalten.

2) Gleichfalls nicht befallen wurde Hieracium pictum, das durch Reihe XXI als Nährpflanze der Puccinia Hieracii f. sp. silvatici s. str. erkannt wurde. Gleiches gilt für Hieracium glaucum, das laut Versuch XIX ebenfalls ein Wirt derselben ist.

3) Intensive Infektion ergab die Reihe für die beiden Hieracium Schmidtii. Von speziellem Wert scheint mir hier das positive Ergebnis auf der Samenpflanze aus Christiania, die auch beim Versuch XXII verwendet wurde, vom Versuchspilz jener Reihe aber nicht befallen werden konnte.

Auch von dem Pilz auf Hieracium silvaticum, ssp. gentile, ist die Puccinia Hieracii auf Hieracium Schmidtii in einem Punkte wesentlich verschieden. Es blieb nämlich dort das Hieracium Schmidtii pilzfrei. Und ebensowenig scheint sie identisch zu sein mit der noch zu behandelnden Form auf Hieracium cinerascens, was der negative Ausfall der Infektion auf dieser Pflanze in Versuch XXVIII andeutet.

Wenn demnach durch diesen einzigen Versuch das biologische Verhalten der Puccinia Hieracii auf Hieracium Schmidtii noch keineswegs vollständig aufgeklärt ist, so glaube ich doch aus den auffallenden Unterschieden schließen zu dürfen, es handle sich hier wieder um eine selbständige biologische Art, deren Infektionskreis allerdings teilweise noch in diejenigen der anderen Formen hineinspielt. Ich nenne diese Form nov. f. sp. Schmidtii.

Puccinia Hieracii (Schum.) Mart., stammend von Hieracium cinerascens.

Leider konnte ich mit dieser Pilzform auch nur einen Versuch einleiten. Das spärliche Versuchsmaterial fand ich am 11. Juli bei Chambrelien im Neuenburger Jura.

XXIX. Infektionsversuch mit Puccinia Hieracii (Schum.) Mart., stammend von Hieracium cinerascens.

Am 15. Juli wurden die Uredosporen auf folgende Pflanzen gebracht:

1. Hieracium cinerascens | Z., vom Standort des Versuchspilzes.
2. „ silvaticum, ssp. exotericum | Z., aus Ostermundingen, immun in den früheren Versuchen.
3. „ „ aus Bolligen bei Bern.
4. „ „ ssp. prasiophaeum | Z., Sämling aus Zürich, bot. Garten.
5. „ villosum, Sämling aus Kew, bot. Garten.
6. „ ochroleucum | Z., „ „ Genf, „ „
7. „ glaucum „ „ Göttingen, „ „
8. „ auricula | Z., aus Ostermundingen bei Bern.
9. „ pratense, Sämling aus Karlsruhe, bot. Garten.

Am 17. Juli wurden auf den Objektträgern zahlreiche Keimungen beobachtet. Von den 4 Kontrollpflanzen erwies sich ein Exemplar als äußerst schwach infiziert. Die anderen blieben gesund.

Versuchsergebnis:

Hieracium cinerascens XXIX 1. 25. Juli: 5 Blätter sind auf ihrer Oberseite mit gelben Uredopusteln bedeckt. Die Infektion scheint sehr kräftig zu sein. 29. Juli: Die Sporenlager sind aufgesprungen. 9. Aug.: Die Pflanze ist außerordentlich stark befallen. 24. Aug.: Die infizierten Blätter sind zugrunde gegangen.

Hieracium ochroleucum XXIX 6. 25. Juli: Punktförmige gelbliche Flecken lassen auf Infektion schließen. 29. Juli: Es bedecken

zahlreiche junge, eben aufgebrochene Sporenhäufchen die Oberseite der Blätter. 9. Aug.: Die Pflanze ist gleichmäßig und kräftig infiziert. 24. Aug.: Die meisten pilzbefallenen Blätter sind verwelkt.

Hieracium silvaticum XXIX3. Am 25. Juli tritt auf einem Blatt ein einziges Uredolager auf. Die Infektion wurde während der ganzen Versuchsbeobachtung nicht mehr stärker. Ob sicher Fremdinfektion vorliege, läßt sich nicht entscheiden.

Ich wage nicht, aus diesem Versuche definitive Schlüsse zu ziehen. Möglicherweise ist ja dieser Pilz nicht die gleiche Form wie die Puccinia Hieracii f. sp. silvatici s. str. Dafür würde das von der Infektion übersprungene Hieracium glaucum sprechen und eventuell wäre auch noch heranzuziehen der schwache Erfolg auf Hieracium silvaticum aus Bolligen.

Ich habe den Versuch hauptsächlich angeführt, um die leichte Empfänglichkeit des Hieracium ochroleucum zu demonstrieren.

Zum Schlusse folgt noch eine Tabelle, in der das Verhalten der behandelten Pilzformen auf Euhieracien übersichtlich zusammengestellt ist.

(Siehe Tabelle p. 710.)

II. Kapitel. Morphologische und entwickelungsgeschichtliche Verhältnisse.

Zur Untersuchung kamen sämtliche Formen, mit denen ich in vorliegender Arbeit experimentiert habe; des weiteren benützte ich noch das allerdings nicht reichliche Sporenmaterial, das im Herbarium des botanischen Instituts von Bern sich vorfand. Wie eigentlich zu erwarten war, förderte diese Untersuchung nicht wesentliche morphologische Unterschiede zwischen den behandelten Pilzformen zutage.

Die Pykniden konnten nur in einem Fall untersucht werden, nämlich bei Hieracium silvaticum, ssp. exotericum, wo ich sie häufig mit primären Uredolagern vergesellschaftet fand. Sie erschienen auffallend spät; die ersten hatte ich anfangs Juni gefunden. Sie traten auf der Blattober- oder -unterseite auf, in kleineren oder größeren orangefarbigen Gruppen, mit Vorliebe auf den Mittelnerv und Blattstiel lokalisiert. Es gelang mir jedoch nicht, in der Natur Pykniden von einer Piloselloidenform zu finden, obwohl ich die Standorte bei Ostermundingen und an der Hunzikerbrücke häufig daraufhin abgesucht habe. Ich möchte das in Zusammenhang bringen mit einer Uredoüberwinterung, die man bei vielen Piloselloidenpilzen fast annehmen muß.

Die Puccinia-Formen auf Piloselloiden bilden nämlich durchschnittlich ihre Teleutosporen später, als die Formen auf Euhieracien. Als im Spätnovember 1906 die Puccinia Hieracii auf Hieracium silvaticum bei Ostermundingen bereits ausschließlich Teleutosporen gebildet hatte, fand ich unter zu gleicher Zeit auf Hieracium auricula gesammeltem Sporenmaterial nur selten eine Teleutospore. Diese Beobachtung bestätigte sich auch diesen Herbst. Gegen Anfang Dezember konnte ich nämlich auf den Blättern infizierter Piloselloiden noch zahlreiche Uredosporen konstatieren, nicht aber auf den Blättern von Hieracium silvaticum.

Diese späte Bildung von Uredosporen ist jedenfalls in Verbindung zu bringen mit der Ueberwinterungsweise der meisten Arten der Untergattung Pilosella. Diese geschieht nämlich durch sitzende, selten gestielte Blattrosetten, welche dann im nächsten Jahr die Stengel austreiben,

Tabelle zu den Versuchen XIX—XXIX.

Versuchspflanzen		Puccinia Hieracii auf H. silvaticum, ssp. exotericum	Puccinia Hieracii auf H. silvaticum, ssp. gentile	Puccinia Hieracii auf H. silvaticum, ssp. pleiotrichum	Puccinia Hieracii auf H. cinerascens	Puccinia Hieracii auf H. Schmidtii
Hieracium Peleterianum | Z.	Piloselloiden	—	.	.	.	.
„ pilosella | Z.	Piloselloiden	—	.	—	.	—
„ auricula | Z.	Piloselloiden	—	.	—	—	—
„ aurantiacum | Z.	Piloselloiden	—	.	.	.	.
„ flagellare | Z.	Piloselloiden	—	.	.	.	.
„ pratense	Piloselloiden	.	.	.	—	.
„ florentinum | Z.	Piloselloiden	—	.	.	.	.
„ Bauhini | Z.	Piloselloiden	—	.	.	.	.
„ glaucum | Z.		+	.	—	—	—
„ bupleuroides		—	.	.	.	.
„ pseudobupleuroides = bupleuroides-sabaudum | Z.		×	.	.	.	.
„ villosum		—	.	—	—	—
„ villosiceps		—	.	.	.	.
„ cerinthoides		—	—	.	.	—
„ Schmidtii | Z.		+? (5)	—	.	.	+
„ silvaticum, ssp. exotericum cardiophyllum (immun) | Z.		—	.	—	—	—
„ silvaticum, ssp. exotericum cardiophyllum normal | Z.		+	.	.	.	.
„ silvaticum, ssp. exotericum aus Bolligen		+	.	.	+? (1)	—
„ silvaticum, ssp. exotericum nemorense | Z.		—	.	.	.	.
„ silvatic., ssp. pleiotrichum | Z.		.	.	+	.	.
„ silvatic., ssp. prasiophaeum | Z.		—	.	.	—	.
„ vulgatum		—	—	.	.	—
„ trebevicianum = transsilvanicum-bifidum | Z.		+	—	.	.	.
„ cinerascens = silvaticum-Schmidtii | Z.		.	.	.	+	—
„ pictum | Z.		+	.	—	.	—
„ humile | Z.		+	+? (6)	.	.	+
„ alpinum		—	.	.	.	—
„ hispidum ? = alpinum-vulgat.		—	.	.	.	.
„ amplexicaule		×	.	.	.	.
„ pulmonarioides		.	—	.	.	.
„ intybaceum | Z.		?	+	.	.	.
„ prenanthoides		?	.	.	.	.
„ juranum ? = prenanthoides-silvaticum		—	.	.	.	.
„ ochroleucum (picroides) | Z.		+ und ×	.	+? (1)	+	+
„ laevigatum | Z.		—	.	.	.	.
„ sabaudum | Z.		—	.	.	.	.
„ balcanum		—	+	.	.	.
„ pannosum		—	.	.	.	.
„ Jankae		—	.	.	.	.
„ Tatrae		—	.	.	.	.
„ staticifolium		—	.	—	.	.
Leontodon hispidus		—	.	.	.	.

Zeichenerklärung: + intensiver Erfolg; × schwacher Erfolg; — negativer Erfolg; +? Fremdinfektion mit Zahl der Sporenlager.

und nur selten durch über den Winter geschlossen bleibende grundständige, sitzende Seitenknospen.

Es ist daher wohl denkbar, daß Spätinfektionen bei günstigen Temperaturverhältnissen zustande kommen, also ähnlich, wie es Ed. Fischer für die Puccinia Malvacearum nachwies. Tritt wieder schlechtere Witterung ein, so wird das Wachstum des Pilzmycels einfach sistiert. Im Frühjahr werden dann von dem so überwinterten Mycel, das von Uredosporen herstammt, natürlich keine Pykniden, sondern direkt primäre Uredolager gebildet. So wäre das Zurücktreten der Pykniden eventuell zu erklären.

Die Uredolager treten fast ausschließlich auf der Oberseite der Blätter auf, nur bei starker Infektion auch auf der Blattunterseite, und es handelt sich dann gewöhnlich um gleichliegende Sporenlager. Die Uredohäufchen sind früh von der Epidermis befreit, anfänglich intensiv rotbraun, dann dunkler werdend, klein, im Maximum 1 mm Durchmesser, an den Blattnerven und Blattstielen oft zusammenfließend.

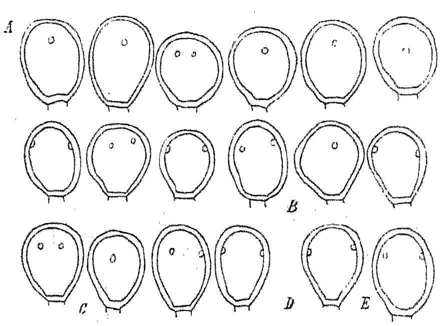


Fig. 2.

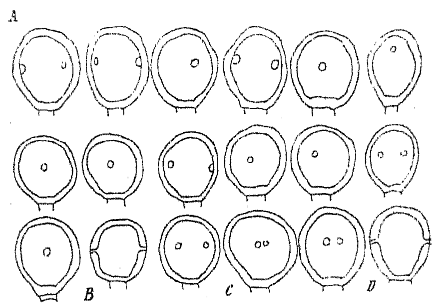


Fig. 3.

Fig. 2. Puccinia Hieracii (Schum.) Mart. A—B f. sp. Silvatici s. str. B—C f. sp. Silvatici gentili. C—D f. sp. Pleiotrichi. D auf Hieracium boreale. E auf Hieracium dovrense.

Fig. 3. Puccinia Piloselloidarum. A—B f. sp. Pilosellae a. B—C f. sp. Hoppeani. C—D f. sp. Pilosellae b. D f. sp. Velutini.

Die Teleutosporenlager zeigen analoge Verhältnisse, wie die Uredohäufchen; sie sind nur etwas dunkler.

Bestachelung und Größe der Uredosporen lieferten keine unterscheidenden Merkmale. Dagegen ist das Verhalten der Keimporen interessant. Die Untersuchungen wurden an reichlichem Sporenmaterial vorgenommen und ergaben folgende Schlüsse:

Bei den auf Piloselloiden lebenden Pilzformen herrschte unverkennbar die Tendenz, die 2 Keimporen mehr gegen den Aequator der meist kugeligen Uredosporen hin zu verlegen. Sporen, bei denen die Keimporen polar zu liegen kommen, sind Ausnahmen und relativ selten zu treffen.

Ganz anders bei den auf Euhieracien fruktifizierenden Pilzen. Hier sind die 2 Keimporen deutlich polar gestellt, die Uredosporen mögen auch etwas häufiger längliche Formen besitzen. Es gibt aber wiederum Ausnahmen von dieser Regel, indem man hin und wieder Sporen trifft, die ihre Keimporen äquatorial haben; aber diese Ausnahmen finden sich ebenso selten, wie bei den Piloselloiden Sporen mit polarständigen Keimporen. Das Extrem der polaren Verschiebung glaubte ich bei der Puccinia Hieracii auf Hieracium silvaticum, ssp. pleiotrichum zu finden.

III. Kapitel. Zusammenfassung und Diskussion der Resultate.

E. Jackys Annahme, die Puccinia Hieracii (Schum.) Mart. zersplittere sich in verschiedene spezialisierte Formen, hat sich im weitesten Sinne bestätigt. Mit verhältnismäßig wenig Material konnte ich 13 biologische Arten unterscheiden, von denen allerdings einige noch weiterer Untersuchung bedürfen und vorläufig nur provisorisch als solche angesehen werden dürfen.

Wie aus den beiden Generaltabellen p. 698 und 710 deutlich zu ersehen ist, geht nie ein Pilz von Piloselloiden über auf Pflanzenarten der Untergattung Euhieracium und auch umgekehrt nie eine Pilzform, von Euhieracien stammend, über auf Piloselloidenarten.

In voller Uebereinstimmung mit dieser Tatsache ist auch das morphologische Verhalten. Wir haben im morphologischen Abschnitt dargetan, daß nur zwischen dem Formenkomplex der Piloselloidenpilze einerseits und demjenigen der Euhieracienpilze andererseits kleine Sporenunterschiede zu finden sind, die sich in der Lage der Keimporen bei den Uredosporen äußern, daß sich aber die spezialisierten Formen auf Piloselloiden untereinander morphologisch ebensowenig unterscheiden lassen, wie die spezialisierten Formen auf Euhieracien.

Es haben nun in neuerer Zeit die Uredineenforscher die Lage der Keimporen als ein wichtiges systematisches Merkmal erkannt. So sagt Ed. Fischer[1]) in seiner Monographie der schweizerischen Uredineen p. L folgendes: „In neuerer Zeit ist, besonders in der Gattung Puccinia, mit Recht auch auf die Lage der Keimporen aufmerksam gemacht worden, die für gewisse Arten eine charakteristisch konstante ist."

Ich glaube daher, hier 2 Arten unterscheiden zu dürfen; die auf Euhieracien lebenden Formen würden den alten Namen Puccinia Hieracii (Schum.) beibehalten, indem Schumacher in seiner 1803 erschienenen Schrift[2]): Enumeratio plantarum Saellandiae als Uredo Hieracii die Pilzform auf Hieracium silvaticum aufführt, welcher Bezeichnung demnach die Priorität zukommt. Für die andere Art wähle ich die Bezeichnung Puccinia Piloselloidarum n. sp.; ihre Nährpflanzen sind Piloselloiden. Die beiden Arten werden sich wahrscheinlich schon früh geschieden haben. Nachträglich sind sie dann unter dem Einfluß der spezialisierenden Faktoren in die vielen biologisch differenten Formen zersplittert worden, die wir heute finden.

Gehen wir nun etwas näher auf die Betrachtung der Spezialisation der beiden Arten ein! Innerhalb der Puccinia Piloselloidarum unterscheiden wir vorläufig folgende formae speciales:

1. Puccinia Piloselloidarum f. sp. Hoppeani.
2. " " " " Peleteriani.
3. " " " " Pilosellae a.
4. " " " " Pilosellae b.
5. " " " " Velutini.
6. " " " " Auriculae.
7. " " " " Ziziani.
8. " " " " Florentini.

Alle diese Formen zeichnen sich dadurch aus, daß bei ihnen die Spezialisation sehr vorgeschritten ist. 4 Formen, nämlich f. sp. Hoppeani, f. sp. Peleteriani, f. sp. Pilosellae a und f. sp. Velutini vermögen nur eine einzige Nährpflanze zu infizieren.

1) Fischer, Ed., Die Uredineen der Schweiz. (Beiträge zur Kryptogamenflora der Schweiz. Bd. II. Heft 2.)

2) Schumacher, Enumeratio plantarum Saellandiae. Pars. II. p. 232.

Auch die nächstverwandten Hieracium-Arten werden verschmäht.

Für die plurivoren Formen Puccinia Piloselloidarum f. sp. Auriculae, Pilosellae b und Ziziani wiesen die Kulturversuche bezw. 2, 4 und 4 Nährpflanzen nach. In den beiden letzten Fällen der Pleophagie ist es jedoch sehr wahrscheinlich, daß noch andere, nahverwandte Hieracium-Arten, die in den Versuchen nicht berücksichtigt worden sind, von dem Pilze befallen werden könnten.

Wie stehen nun die Wirte der plurivoren Pilzformen in systematischer Beziehung zueinander?

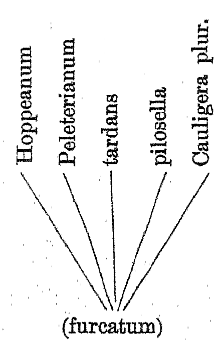
Die Puccinia Piloselloidarum f. sp. Pilosellae b vermochte neben H. pilosella, ssp. vulgare α) genuinum 1) subpilosum vom Standort b noch zu infizieren: H. tardans, rubrum und furcatum.

H. tardans reiht sich zunächst an H. pilosella an. Nägeli und Peter[1]) sagen in ihrer Monographie der Piloselloiden über dasselbe: „Wahrscheinlich ist H. tardans eine sehr alte Species, welche mit italienischen und spanischen Piloselloiden zusammenhängt.“

H. rubrum = aurantiacum > pilosella ist eine Sippe, die H. pilosella verbindet mit Species aurantiacum, dem letzteren aber näher steht, als dem ersteren. Die hierher gehörigen Formen sind nach Nägeli und Peter[2]) wahrscheinlich nicht als Bastarde, sondern als Zwischenformen aufzufassen.

Zur anderen Sippe, die auch Uebergangsformen von den beiden Hauptarten aufweist, gehört das H. stoloniflorum, dessen Formen aber als Bastarde angesehen werden müssen. Es wurde vom Pilz nicht befallen.

Die Infektion des H. tardans und rubrum läßt sich also aus der Verwandtschaft mit H. pilosella wohl erklären. Etwas schwieriger gestaltet sich die Sache bei H. furcatum = Hoppeanum-glaciale. Nägeli und Peter sagen p. 238 ihrer schon erwähnten Monographie folgendes über die Species: „In der intermediären Zwischengruppe furcatum stehen Pflanzen, welche die Merkmale ihrer Hauptarten Hoppeanum und glaciale in vollständiger Durchdringung aufweisen . . . Die Furcata sind indessen nicht als Bastarde, sondern als eine sehr alte, durch Variation entstandene Species anzusehen.“ p. 51 steht ferner, es könnten H. Hoppeanum, Peleterianum, tardans und pilosella nebst vielen der mit Stengel versehenen Haupt- und Zwischenarten aus einem gemeinsamen, dem H. furcatum nahestehenden Hieracium sich herleiten.“ Derselben Seite entnehme ich den folgenden Stammbaum.



1) Nägeli u. Peter, Die Hieracien Mitteleuropas: Piloselloiden. p. 174.
2) Nägeli u. Peter, l. c. p. 322.

Unter diesen Gesichtspunkten betrachtet, ließe sich wohl eine Erklärung für die Infektion des Hieracium furcatum denken. Der Pilz ist ein Abkömmling einer plurivoren Urform, die auf Piloselloiden lebte. Da man deren Abstammung von ganz wenigen Urformen ableitet, für die Gruppe der H. Hoppeanum, Peleterianum, tardans, pilosella und der Caligera plur. speziell eine dem H. furcatum sehr nahestehende Hieracium-Art als Ausgangspunkt nimmt, so hatten die Deszendenten wahrscheinlich sehr ähnliche Empfänglichkeit für die Puccinia Piloselloidarum. Der Pilz spezialisierte sich nun, er hat im Laufe der Zeit von seinem Infektionsvermögen einen Teil eingebüßt, wie meine Versuche nachweisen für H. auricula, pratense, pilosella, ssp. velutinum, Bauhini, stoloniflorum? und Peleterianum; für einige Formen ist es ihm aber noch geblieben und zu diesen gehört das der Urform der größeren Gruppe der Piloselloiden sehr nahestehende H. furcatum.

Ich glaube, es wäre wirklich zu kurzsichtig gehandelt, wollte man das Befallen des H. furcatum, dessen Verbreitungsbezirk nach Westen nicht über den St. Gotthard reicht, nur als eine zufällige Sprunginfektion auffassen. Dabei macht man allerdings die Voraussetzung, daß die Plurivorität phylogenetisch älter sei und aus ihr sich erst die univoren Formen ableiten lassen.

Die zweite plurivore Form, nämlich f. sp. Ziziani, befällt außer dem H. Zizianum noch Species florentinum, Species pratense und Bauhini.

H. Zizianum ist eine Zwischenform der Species florentinum und cymosum und steht intermediär zwischen den Hauptarten.

H. Bauhini weist leichte Abweichungen gegen H. florentinum und praealtum und damit auch gegen H. pratense auf, ist also nahe verwandt mit diesen Species.

H. pratense endlich ist nach Nägeli und Peter[1]) eine Species, die sich nach manchen Richtungen hin nur schwierig begrenzen läßt, weil sie Uebergangsreihen zu zahlreichen anderen Arten besitzt, so namentlich nach der Species florentinum. Der Parasit wählt sich also auch hier seine Wirtspflanzen nach der systematischen Verwandtschaft.

Durchgehen wir nun die Pilzformen auf den Euhieracien, so sind im wesentlichen gleiche Verhältnisse zu konstatieren.

Wir unterscheiden da vorläufig folgende spezialisierte Formen:

1. Puccinia Hieracii f. sp. Silvatici s. str.
2. „ „ „ „ „ pleiotrichi
3. „ „ „ „ „ gentili
4. „ „ „ „ Schmidtii
5. „ „ „ „ Cinerascentis

Mit Ausnahme der Pilzform auf H. silvaticum, ssp. pleiotrichum sind alle anderen plurivor. Die erstere ist allerdings noch nicht genügend durchexperimentiert. Es würde sich dann noch anreihen die spezialisierte Form auf H. villosum, die E. Jacky[2]) aufgestellt hat. Auch das Verhalten dieser Form muß noch näher geprüft werden.

Für die plurivore Form auf Hieracium silvaticum, ssp. exo-

---

1) Nägeli und Peter, l. c. p. 299.
2) Jacky, E., l. c. p. 73.

tericum wiesen meine Versuche vorläufig noch folgende weitere Nährpflanzen nach: H. ochroleucum, glaucum, pseudobupleuroides, trebevicianum, amplexicaule, pictum und humile.

Wie stellen sich dieselben in ihrer systematischen Verwandtschaft zu Hieracium silvaticum?

Hieracium glaucum und pseudobupleuroides gehören der Gruppe der Glaucina an. Species glaucum ist nicht eine wohlcharakterisierte Art, sondern mehr Uebergangsgruppe, Zwischenart nach den Silvatica-artigen Hieracien. Nägeli und Peter[1]) glauben, daß Hieracium glaucum nur mit Species silvaticum und villosum in naher Verwandtschaft stehen. Selbst zu den übrigen Glaucina scheinen die Beziehungen nur sehr geringe zu sein, am meisten vielleicht noch zu Hieracium bupleuroides, zu welchem immerhin zwei Uebergangssippen bekannt sind.

Hieracium pseudobupleuroides steht intermediär zwischen H. bupleuroides und H. sabaudum. Im Versuch XIX wurde Hieracium glaucum intensiv befallen, schwächer dagegen Hieracium pseudobupleuroides, ein Resultat, das wieder auffallend mit der systematischen Verwandtschaft sich in Uebereinstimmung bringen läßt.

Hieracium trebevicianum = transsilvanicum-bifidum; sowohl H. transsilvanicum, wie Species bifidum sind mit den Silvatica nahe verwandt. Species bifidum ist H. silvaticum-glaucum.

Nicht reichlich war die Infektion auf H. amplexicaule, das auch etwas weiter entfernt steht und die Hauptspecies der Gruppe der Amplexicaulia repräsentiert.

Dagegen sind wieder Uebergangsformen zum Hieracium silvaticum bekannt aus den beiden Rotten der Lanatella und Heterodonta, zu welch ersteren das Hieracium pictum, zur letzteren Species humile gehört.

Recht auffällig war der außerordentlich intensive Infektionserfolg auf Hieracium ochroleucum Schl. = prenanthoides-intybaceum. Mit dem Hieracium silvaticum würde diese Zwischenform nur durch einen Elter verbunden, nämlich durch Hieracium prenanthoides, das allerdings zahlreiche Uebergangsformen zu jener Art aufzuweisen hat. Species intybaceum jedoch ist nach Zahns Monographie der schweizerischen Hieracien[2]) eine der bestbegrenzten Hieracienarten und steht fast nur mit prenanthoides durch Uebergänge in Verbindung Daß man mit der Verwandtschaft hier nicht allein auskommt, den reichlichen Erfolg zu erklären, dafür spricht die schwache Infektion auf Hieracium picroides Vill. Hieracium ochroleucum Schl. und picroides Vill. sind nach Zahn[3]) synonym. Es scheinen also die Pflanzen aus dem Genfer Botanischen Garten eher eine natürliche Prädisposition zu besitzen, und zwar nicht nur für die Pilzform für Hieracium silvaticum, ssp. exotericum, sondern auch für die anderen Formen, von denen sie mehr oder weniger kräftig befallen wurden. Eine Ausnahme machte nur die Puccinia Hieracii auf Hieracium silvaticum, ssp. pleiotrichum.

Wenn man aber die anderen Nährpflanzen berücksichtigt, so läßt es

---

1) Nägeli und Peter, Die Hieracien Mitteleuropas. Bd. II: Archieracien. p. 5.
2) Zahn, K. H., l. c. p. 577.
3) Zahn, K. H., l. c. p. 658.

sich kaum leugnen, daß die Auslese der Wirte dieser Pilzform eng mit der natürlichen Verwandtschaft zusammenhängt. Ja, die verschiedenen Empfänglichkeitsgrade, z. B. bei Species glaucum und pseudobupleuroides, sowie amplexicaule gewinnen gerade dadurch eine recht wahrscheinliche Erklärung.

Es befremdet aber, daß in den Infektionsversuchen die allernächsten Verwandten pilzfrei blieben, so Hieracium silvaticum, ssp. exotericum β) nemorense, silvaticum, ssp. prasiophaeum und H. vulgatum. Was die Ursache dieser negativen Infektionsresultate ist, läßt sich nicht entscheiden.

Durch die Pilzrasse des Versuches XXIII a und b wurde noch infiziert Hieracium villosum. Auch von dieser Species sind zum H. silvaticum gleitende Verbindungsreihen bekannt, die aus Variation im Sinne Nägelis hervorgegangen sind.

Als zweite plurivore Form soll betrachtet werden der Pilz auf Species Schmidtii. Er befällt außer Hieracium Schmidtii laut meinem Versuch noch Species humile und ochroleucum, welch erstere Art viele Uebergangsglieder zu Hieracium Schmidtii besitzt. Hieracium ochroleucum könnte wiederum nur durch Species prenanthoides mit Hieracium Schmidtii verbunden sein.

Obwohl die Form mit der Puccinia Hieracii f. sp. silvatici s. str. zwei Wirte gemeinsam hat, nämlich Species humile und ochroleucum, unterscheidet sie sich doch in wesentlichen Punkten von jener, wie ich im experimentellen Teil nachgewiesen habe. Für die silvaticum-Gruppe scheint ihr das Infektionsvermögen zu fehlen, denn nicht nur gingen Species silvaticum, sondern auch cinerascens = silvaticum-Schmidtii pilzfrei aus.

Da die anderen Pilzformen zu wenig durchexperimentiert sind, will ich darauf verzichten, ihre Versuchsergebnisse zu diskutieren.

Es sei noch bemerkt, daß in der Gruppe der Euhieracien die Spezialisation weniger ausgeprägt zu sein scheint, als in der Untergattung Pilosella, indem die Infektionskreise noch teilweise ineinander übergehen.

Es scheint also im allgemeinen bei der Wahl der Nährpflanzen Parallelismus zur systematischen Verwandtschaft zu existieren. Auch Klebahn kommt in seinen neuesten Untersuchungen[1]) über Phragmidium Rubi (Pers.) Wint. zu dem Schluß, daß der Pilz unter den sehr nahe verwandten Rubus-Formen eine Auswahl trifft, und daß diese Auswahl sich eng an die systematische Verwandtschaft anzuschließen scheint.

Im speziellen Teil wurde bei der Diskussion der Versuche mit der Puccinia Hieracii f. sp. silvatici s. str. bereits aufmerksam gemacht auf das eigenartige Verhalten eines im Ostermundingengebiet vorkommenden Hieracium silvaticum, ssp. exotericum.

Ich hatte im Herbst 1906 in der Nähe der Station Ostermundingen bei Bern einen Waldweg entdeckt, dessen rechte Seite von einer Population des H. silvaticum, ssp. exotericum auf ungefähr 120 m besiedelt war. Die ersten 70 m dieser Population waren fast sämtlich

1) Klebahn, Zeitschr. für Pflanzenkrankh. Bd. XVII. 1907. Heft 3.

gesunde Pflanzen; nur hin und wieder fand sich eine infizierte darunter. Dann folgten ca. 60 m weit Exemplare, die fast ausnahmslos sehr stark infiziert waren und sich von dem gesunden Teil der Population auffallend abhoben. Unter ihnen waren dann allerdings vereinzelt Pflanzen, die nur schwach oder gar nicht pilzbefallen waren.

Im Frühjahr 1907 holte ich mir, bevor die überwinterten Teleutosporen gekeimt hatten, vom gesunden Teil der Population Versuchspflanzen, die sich nach längerer Beobachtung als pilzfrei erwiesen. Das Auffallende an ihnen war nun, daß sie sich in den Infektionsversuchen mit Sporen von H. silvaticum, ssp. exotericum γ) cardiophyllum immun verhielten. So gingen Exemplare, die von jenem gesunden Abschnitt der Population herkamen, in den Reihen XIX—XXIV immer pilzfrei aus, obwohl der Versuchspilz von den infizierten Pflanzen der gleichen Population herstammte. Die Immunität bewährte sich auch gegenüber einem Pilz auf H. silvaticum, ssp. exotericum von einem anderen Standort, nämlich von Bolligen bei Bern, wie die Reihe XXIV dartut. Herr Karl Hermann Zahn konnte zwischen infizierten und gesunden (immunen) Pflanzen absolut keine morphologischen Unterschiede finden. Die Pflanzen unterscheiden sich also nur biologisch.

Wenn wir in der botanischen Literatur über verschiedene Empfänglichkeit bei Infektionskrankheiten nach Analoga suchen, so finden sich solche nicht allzu selten. Einer der ähnlichsten Fälle ist wohl derjenige, den E. Salmon[1]) bei seinen Experimenten mit Erysiphe Graminis beobachtete. Es handelte sich um zwei Bromus-Arten, Bromus mollis und Bromus hordeaceus, die sich bei Bestimmung durch Spezialisten als morphologisch vollkommen identisch erwiesen. Br. hordeaceus wurde infiziert, Br. mollis war immun. Salmon hat, soviel ich seiner Arbeit entnahm, keine Versuche über die Konstanz dieser Immunität ausgeführt. Es ließen sich dann weiter erwähnen die hervorragenden Untersuchungen von Eriksson über Getreideroste, die eine verschiedene Widerstandsfähigkeit und individuelle Prädisposition der einzelnen Getreidesorten ergeben haben. Aehnliche Verhältnisse bei den Getreidesorten fanden auch E. Marchal und Klebahn. Es würde uns hier zu weit führen, wollten wir auf die umfangreiche Literatur näher eintreten.

In seinem Werke: „Die wirtwechselnden Rostpilze“ sagt Klebahn p. 193: „Eine Erklärung für die verschiedene Empfänglichkeit der Sorten zu geben, ist augenblicklich unmöglich.“ Auch unser Fall ist noch zu wenig untersucht, um einwandslos erklärt zu werden. Am natürlichsten würde mir scheinen, anzunehmen, diese immune Rasse sei durch Mutation im Sinne de Vries' entstanden. Aber erst weitere Untersuchungen, die in erster Linie die Konstanz der Immunität prüfen, werden diesen Erklärungsversuch diskutierbar machen. Auf alle Fälle aber beweist die Beobachtung, noch mehr dann allerdings die folgende, daß bei der Spezialisationserscheinung nicht nur Veränderungen der Pilze, sondern auch Veränderungen der Nährpflanzen in Betracht gezogen werden müssen.

Auch bei den Pilzformen auf H. Peleterianum und auricula zeigte sich die Erscheinung, daß Pflanzen anderer Herkunft als vom Standort des Pilzes schwächer oder gar nicht befallen wurden.

---

1) Salmon, E., On Erysiphe Graminis DC. etc. (Annales mycol. Vol. II. 1904. No. 3 und 4.

Noch bedeutend komplizierter ist der Fall beim Pilz von Hieracium pilosella vom Standort a bei Ostermundingen (Bern). Es tritt uns hier eine Spezialisation entgegen, wie sie wohl nicht stärker und prägnanter entwickelt sein könnte. Die Puccinia Piloselloidarum f. sp. Pilosellae a vermag nämlich nur Hieracium pilosella, ssp. vulgare α) genuinum 1) subpilosum zu infizieren, und zwar, wie der Versuch X zeigt, nicht beliebige Exemplare dieser Species, sondern nur eine Rasse, die ich vorläufig ausschließlich beim Standort a bei Ostermundingen und in dessen nächster Umgebung gefunden habe. So wurden z. B. nicht befallen das H. pilosella, ssp. vulgare α) genuinum 1) subpilosum vom Standort b und ein gleiches H. pilosella aus dem botanischen Garten von Bern. Herr Karl Hermann Zahn in Karlsruhe hat alle 3 Formen als morphologisch gleichwertig bestimmt. Es kann sich demnach nur um einen biologischen Unterschied handeln. Diese Annahme wird noch gestützt durch das Verhalten der Hieracium pilosella-Rasse vom Standort a gegenüber dem plurivoren Pilz auf H. pilosella vom Standort b; erstere wird nämlich von ihm nicht befallen.

Wir haben es also hier, wie beim Fall des H. silvaticum, mit 2 Nährpflanzenrassen zu tun. Während dort aber die eine Form keinen Pilz führte, beherbergen hier beide Wirtrassen biologische Arten der Puccinia Piloselloidarum.

Man wäre nun geneigt, aus den örtlichen Verhältnissen vom Ostermundinger Pilzgebiet zu schließen, daß Nährpflanze und Pilzform vom Standort a früher identisch gewesen wären mit der Nährpflanze und Pilzform vom Standort b. Dabei scheint mir die Pilzform vom Standort b wegen ihrer Plurivorität die ursprünglichere zu sein.

Auf dieser Voraussetzung fußend, können wir einen Erklärungsversuch geben. Wir stellen uns vor, daß auf H. pilosella ursprünglich ein Pilz lebte, der auch andere H. pilosella und noch verschiedene nahverwandte Piloselloiden zu befallen vermochte. Nun hätte sich von dieser Stammform der Nährpflanze eine H. pilosella-Rasse abgespalten, die sich biologisch verändert, also spezialisiert hat. Der auf dieser Pflanzenrasse lebende Pilz wäre der Veränderung seiner Wirtpflanze gefolgt und hätte dabei sein Infektionsvermögen für das ursprüngliche H. pilosella und die anderen Piloselloiden verloren und wäre dabei univor geworden.

Man kann sich demnach die H. pilosella-Rasse vom Standort a und Umgebung als durch Mutation aus der Form vom Standort b entstanden denken, wobei aber, zum Unterschied vom Fall bei H. silvaticum, durch die Veränderung der Nährpflanze auch der Pilz in seinen Eigenschaften verändert wurde.

Als Ursache der Spezialisation werden oft die in der Natur gegebenen Verbreitungsverhältnisse der Nährpflanzen angenommen. Durch Abwesenheit anderer Wirte mußte sich eine plurivore Pilzform mit einer einzigen Nährpflanze begnügen, an die sie sich im Laufe der Zeit angewöhnen würde und einen Teil ihres ursprünglichen Infektionsvermögens einbüßte.

Die im Ostermundingengebiet bei Bern auftretenden Hieracienpilze sprechen gegen eine solche Angewöhnung. Denn es kommen beispielsweise in der Waldlichtung a bunt gemischt folgende Hieracienspecies vor: H. pilosella, ssp. vulgare α) genuinum 1) subpilosum,

H. pilosella ssp. vulgare α) genuinum 3) pilosum, H. auricula und H. silvaticum. Trotzdem beherbergen die erstere, ferner H. auricula und H. silvaticum Pilzrasen, von denen keine auf die andere Pflanze übergeht. H. pilosella ssp. vulgare α) genuinum 3) pilosum dagegen ist pilzfrei.

Es soll damit nicht gesagt sein, daß der Faktor der Angewöhnung, gezwungene Einschränkung des Infektionskreises keinen Anteil an der Spezialisation eines Pilzes nehme. Nur wird man in Zukunft bei der Erklärung der Entstehung spezialisierter Formen auch den Veränderungen der Nährpflanze und dem Einfluß derselben auf den Pilz größere Bedeutung zumessen müssen.

Die besprochenen Infektionsresultate bringen uns noch auf die Frage nach der Beweiskraft negativer Ergebnisse. Magnus sagt darüber folgendes: „Ich möchte noch darauf hinweisen, daß, so wichtig Impfversuche mit positiven Resultaten sind, es doch mißlich ist, auf negative Resultate der Impfung ein zu großes Gewicht zu legen ... Solange uns nicht ausgedehnte experimentelle Untersuchungen vorliegen, wovon das Gelingen und von welchen Veränderungen der Wirtspflanze (Einwirkungen der veränderten Lebensbedingungen auf dieselbe, deren Entwickelungszustände u. a.) das Mißlingen der Impfung abhängt, dürfen wir den negativen Resultaten bei nahe verwandten Wirtspflanzen kein allzu großes Gewicht für die Beurteilung systematischer und selbst biologischer Fragen beilegen.“

Demgegenüber spricht sich Fischer in seinen Uredineen der Schweiz folgendermaßen aus: „Diese Mahnung zur Vorsicht ist natürlich sehr gerechtfertigt, und es kann nicht genug hervorgehoben werden, daß negative Ergebnisse auf viel zahlreichere Versuche gestützt sein müssen, als positive . . . Negativen Ergebnissen aber ganz die Beweiskraft abzusprechen, wäre doch zu weit gegangen: namentlich da, wo wiederholt mit 2 Uredineen auf 2 Nährpflanzen reziproke Versuche gleichzeitig und unter möglichst gleichen Bedingungen ausgeführt worden sind und verschiedenes Verhalten der beiden Pilze dargetan haben, darf wohl an der Nichtidentität der letzteren kaum gezweifelt werden, besonders wenn man weiß, wie sicher und zuverlässig im allgemeinen bei den Uredineen die Infektionsversuche gelingen, sobald die geeignete Nährpflanze vorliegt . . . Zudem hat sich in vielen Fällen ergeben, daß das Resultat von solchen experimentellen Untersuchungen sich hernach durch Auffindung kleiner morphologischer Unterschiede bestätigte.“

Diese Forderungen, die Fischer für die negativen Versuchsresultate stellt, sofern sie beweiskräftig sein wollen, sind nun bei meinen Versuchen fast durchgehends erfüllt, indem mit den verschiedenen Pilzformen immer reziproke Impfungen vorgenommen wurden. Des weiteren ist auch das Verhalten der Piloselloidenpilze gegenüber Euhieracien und umgekehrt der Euhieracienpilze gegenüber den Piloselloiden durch die kleinen morphologischen Unterschiede, die sich bei diesen beiden Pilzgruppen finden, erklärlich geworden. Was dann endlich die komplizierten Fälle beim H. silvaticum und H. pilosella vom Standort a anbetrifft, so habe ich zwar betont, daß hier noch weitere Versuche notwendig seien; der eklatante und präzise Erfolg aber aller Versuche, die sich auf diese Fälle beziehen, machte es mir höchst wahrscheinlich, daß spätere Impfungen im Prinzip kein anderes Resultat bringen werden. Immerhin beweist vielleicht der Umstand, daß Hieracien der gleichen Species von

verschiedenen Standorten in einigen Fällen nicht gleichartig befallen wurden und daß bei multivoren Formen die allernächsten Verwandten einer empfänglichen Species sich als immun erwiesen, daß die oben innerhalb der Piloselloiden und Euhieracien unterschiedenen biologischen Arten nicht allgemeine Gültigkeit haben, sondern daß dieselben sich bei anderen Standortsverhältnissen und anderen Rassen der betreffenden Hieracien wesentlich verschieben könnten. Es scheint mir sehr wahrscheinlich, daß weitere Untersuchungen über diese Hieracienpilze noch bedeutend kompliziertere Verhältnisse, als die hier geschilderten, feststellen werden.

Berichtigung.

In der aus dem Laboratorium der Versuchsstation für Molkereiwesen Kiel hervorgegangenen, in No. 1/3 des XXII. Bandes dieser Zeitschrift veröffentlichten Arbeit des Herrn Dr. Otto Fettick, Untersuchungen über die Bakterien, Hefen und Pilze der Butter und über den Einfluß des Kochsalzes auf dieselben etc., ist sowohl im Text (p. 34 und 40), wie auch in den Literaturangaben, die verdienstvolle Arbeit Orla Jensens: „Ueber das Ranzigwerden der Butter" irrtümlicherweise C. O. Jensen zugeschrieben. Da eine Verwechselung der beiden dänischen Forscher — Orla Jensen, früher Mitarbeiter von Ed. von Freudenreich auf der schweizerischen milchwirtschaftlichen Versuchsstation in Bern, jetzt Professor und Leiter des gärungsphysiologischen Instituts an der polytechnischen Hochschule in Kopenhagen, und C. O. Jensen, Professor an der Veterinär- und Landbau-Hochschule daselbst — in letzter Zeit bei Literaturangaben verschiedentlich bemerkt worden ist, so dient es vielleicht der Vorbeugung weiterer Mißverständnisse, wenn hier besonders darauf aufmerksam gemacht wird, daß es sich bei den beiden Namen O. Jensen und C. O. Jensen um verschiedene Autoren handelt.

Kiel, den 12. Februar 1909.

Prof. Dr. Weigmann.

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Abgeschlossen am 15. März 1909.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band XXII enthaltenen Arbeiten.

II. Sachverzeichnis.

III. Verzeichnis der Abbildungen.

IV. Neue Literatur.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 3501

Date of issue.	Date of issue.	Date of issue.
3.12.58		
3.7.59		
27-12-66		
18-3.67		
8 JAN 1969		